

OCULOPATIA NA POLINEUROPATIA AMILOIDOTICA FAMILIAR TIPO PORTUGUÊS

João Nuno Melo Beirão

Dissertação de Doutoramento em Ciência Médicas

2014

João Nuno Melo Beirão

**OCULOPATIA NA POLINEUROPATIA AMILOIDOTICA FAMILIAR
TIPO PORTUGUÊS**

Dissertação de candidatura ao grau de Doutor
em Ciências Médicas submetida ao Instituto de
Ciências Biomédicas Abel Salazar da
Universidade do Porto

Orientador – Professor Doutor Paulo Torres
Categoria – Professor Catedrático Convidado
Afiliação – Instituto de Ciências Biomédicas
Abel Salazar da Universidade do Porto

Co-orientador – Professor Doutor Paulo Pinho e Costa
Categoria – Professor Auxiliar Convidado
Afiliação - Instituto de Ciências Biomédicas
Abel Salazar da Universidade do Porto

Nesta dissertação foram utilizados resultados contidos nos seguintes trabalhos, pessoais ou de colaboração, já publicados ou submetidos para publicação:

Artigos originais publicados em revistas internacionais

Beirão NM, Matos E, Beirão I, Costa PP, Torres P. Recurrence of vitreous amyloidosis and need of surgical reintervention in Portuguese patients with familial amyloidosis ATTR V30M. *Retina*. 2011 Jul-Aug;31(7):1373-7

Beirão M, Matos E, Beirão I, Costa PP, Torres P. Anticipation of presbyopia in Portuguese familial amyloidosis ATTR V30M. *Amyloid*. 2011 Sep;18(3):92-7

Beirão NM, Matos ME, Meneres MJ, Beirão IM, Costa PP, Torres PA. Vitreous surgery impact in glaucoma development in liver transplanted familial amyloidosis ATTR V30M Portuguese patients. *Amyloid*. 2012 Sep; 19(3):146-51.

Beirão M, Matos E, Reis R, Beirão I, Costa PP, Torres P. Spatial visual contrast sensitivity in liver transplanted Portuguese familial amyloidotic polyneuropathy (ATTR V30M) patients. *Amyloid*. 2012 Sep;19(3):152-5.

Beirão M, Matos E, Beirão I, Pinho-Costa P, Torres P. No ocular involvement in familial amyloidotic polyneuropathy ATTR V30M domino liver recipients. *Transpl Int*. 2012 Jun;25(6):646-51.

Beirão JM, Matos ME, Beirão IB, Costa PP, Torres PA. Topical cyclosporine for severe dry eye disease in liver-transplanted Portuguese patients with familial amyloidotic polyneuropathy (ATTRV30M). *Eur J Ophthalmol*. 2013 Mar-Apr;23(2):156-63.

Beirão JM, Moreira LV, Lacerda PC, Vitorino RP, Beirão IB, Torres PA, Costa PP. Inability of mutant transthyretin V30M to cross the blood-eye barrier. *Transplantation*. 2012 Oct 27; 94(8):e54-6.

Beirão M, Miranda VP, Beirão I, Costa PP, Torres P. The use of intravitreal ranibizumab to treat neovascular glaucoma due to retinal amyloidotic angiopathy in familial amyloidosis ATTR V30M (FAP ATTR V30M). *Retinal Cases & Brief Reports*. 2013(7):114-6

Beirão M, Moreira L, Oliveira J, Meneres MJ, Pessoa B, Matos E, Costa P, Torres P, Beirão I. Aqueous humor erythropoietin levels in open angle glaucoma patients with and without TTR V30M Familial Amyloid Polyneuropathy. *Molecular Vision*. Aceite para publicação

Artigos originais submetidos para publicação em revistas internacionais

Beirão J, Malheiro J, Lemos C, Matos E, Beirão I, Costa P, Torres P. Impact of liver transplantation on the natural history of oculopathy in portuguese patients with amyloidosis ATTR V30M. *Amyloid*.(submetido)

Beirão J, Malheiro J, Carolina, Beirão I, Costa P, Torres P. Ophthalmological manifestations in familial amyloidosis TTR V30M portuguese mutation carriers: a review of 513 cases. *Amyloid*. (submetido)

Trabalho realizado nas seguintes instituições

Serviço de Oftalmologia, Hospital Santo António do Centro Hospitalar do Porto

Serviço de Química Clínica, Hospital Santo António do Centro Hospitalar do Porto

Unidade *Corino de Andrade* do Centro Hospitalar do Porto

Instituto de Ciências Biomédicas *Abel Salazar*

Instituto Nacional de Saúde *Dr. Ricardo Jorge*

Instituto de Genética Médica *Dr. Jacinto de Magalhães*

Instituto de Biologia Molecular e Celular do Porto

Universidade de Aveiro

À minha MULHER e aos meus filhos, Diogo, Tiago, Joana e Helena

“É na investigação, na vivência dos problemas, que se formam os homens capazes de resolverem os problemas que surgem. [...] A investigação científica tem ainda uma função pedagógica. Fazer observar, reflectir sobre dados da observação, formular hipóteses de trabalho baseadas sobre esses dados, subir às generalizações mais abstractas, mergulhar na vida e encontrar nela os estímulos e sugestões para novos problemas.”

Dr. Corino de Andrade, sobre investigação científica

Agradecimentos

Para estudar a patologia ocular na polineuropatia amiloidótica familiar (PAF) foi necessário trabalho conjunto em várias organizações, agregando as propostas e o trabalho de várias pessoas.

Como aluno de Medicina, foi no Instituto de Ciências Biomédicas *Abel Salazar*, que iniciei a minha formação humana, técnica e científica, criando as bases e o gosto pela investigação científica. Passei ao Hospital Santo António, cresci como estudante de medicina e futuro médico. No Serviço de Oftalmologia, de enorme reputação científica e assistencial, continuei o meu gosto pela investigação clínica. Mas, foi já como oftalmologista sénior, que senti a estabilidade, a responsabilidade e o desafio para concretizar o estudo dos meus doentes com polineuropatia amiloidótica familiar.

Ao Professor Doutor Paulo Torres, o meu orientador de tese, pelo seu empenho e estímulo desde o início. Agradeço a confiança depositada em mim no ensino da Unidade Curricular de Oftalmologia do Mestrado Integrado Medicina do Instituto de Ciências Biomédicas *Abel Salazar*, e que muito tem contribuído para a minha formação. Sem o seu suporte não teria sido possível terminar este percurso, com a certeza, que o caminho continua.

Ao Professor Doutor Paulo Pinho e Costa pelo incansável apoio, principalmente como redactor do meu inglês científico e técnico, e com a sua visão lucida e ideias bem arrumadas, acreditando sempre que me encontrava no bom caminho.

À Professora Doutora Idalina Beirão, minha primeira revisora e crítica, pela sua inesgotável energia, disponibilidade e notável capacidade de organizadora de ideias.

À Dra. Eduarda Matos, obrigado pelo apoio na análise estatística e pela constante disponibilidade demonstradas.

À Dra. Luciana Moreira, colaborou ativamente nos trabalhos de investigação básica, quer no laboratório, quer na sua redação. Será com certeza, dentro de pouco tempo um *expert* de excelência em ciência básica da PAF.

À Professora Doutora Carolina Lemos pelo apoio no tratamento estatístico da minha base de dados.

Ao Dr. Jorge Malheiro, agradeço os esclarecimentos estatísticos e a sua energia para efetuar “mais” uma análise.

Ao Dr. Pedro Menéres, colega e amigo, conhecedor de há muitos anos da minha paixão de saber mais sobre a PAF, e que me incentivou na constante sobre a evolução do meu trabalho. É hoje o Diretor no Serviço de Oftalmologia do Centro Hospitalar do Porto.

À Dra. Bernardete Pessoa, colega e amiga, acreditou sempre no meu trabalho e colaborou ativamente no tratamento dos nossos doentes.

À Dra. Maria João Menéres, responsável da Secção de Glaucoma, pela disponibilidade permanente e enorme dedicação, no acompanhamento e tratamento dos doentes com PAF.

À Professora Doutora Luísa Lobato, uma das primeiras a acreditar na minha investigação sobre a oculopatia da PAF e pelo seu estímulo contínuo.

À Dra. Teresa Coelho, pelo envio dos doentes com oculopatia.

À Professora Doutora Helena Pessegueiro, pelo envio dos doentes com queixas oftalmológicas que aguardavam transplante hepático no Departamento de Transplantes do Centro Hospitalar do Porto.

À Dra. Judit Gandara, responsável da consulta de Pós Transplante Hepático, pela sua receptividade e colaboração, enviando os doentes com PAF e recetores de fígado PAF.

Ao Professor Doutor Eduardo Barroso e à Dra. Elia Mateus, pela sua confiança, enviando os seus doentes com PAF, para serem avaliados e tratados da sua oculopatia.

Ao Professor Doutor João Amado, um dos primeiros a acreditar na minha capacidade para elaboração desta tese, pelo seu apoio e constante disponibilidade demonstrada.

Ao Prof. Dr. Queirós Marinho, o meu primeiro Diretor de Serviço que deu visibilidade e notoriedade nacional ao Serviço de Oftalmologia do Hospital Santo António.

Ao Prof. Dr. Joaquim Torres, grande incentivador da investigação, empenho e diferenciação académica dos médicos mais jovens e pelo seu constante questionar da minha evolução.

Ao Dr. Vasco Miranda, o melhor interno que se pode orientar.

A todos os colegas e funcionários do meu Serviço e do meu Hospital.

Aos meus doentes, os maiores entusiastas do meu estudo, que me incentivaram continuamente, sentindo os benefícios de um melhor conhecimento da oculopatia na PAF.

Aos meus pais, por me terem lembrado os verdadeiros valores da vida. Aos meus sogros pelo apoio e disponibilidade sempre demonstrada.

À minha mulher, pelo empurrar constante, principalmente quando a “gasolina se esgotava no depósito”. Muito obrigado por seres farol, GPS, colo, para-choques e *stamina*. Com uma companheira de percurso assim, tudo parece fácil ♥.

Aos meus filhos, Diogo, Tiago, Joana e Helena, pela paciência, pelo carinho e pela vaidade no trabalho do pai. Eu sei que todos estão orgulhosos.

ÍNDICE

Índice	1
Abreviaturas	3
Preâmbulo	5
Capítulo I	
Introdução	9
Amilóide	9
Amiloidoses	9
<i>Localizadas</i>	10
<i>Sistémicas</i>	11
<i>Por transtirretina</i>	11
Manifestações oftalmológicas das amiloidoses	12
<i>Órbita e anexos oculares</i>	12
<i>Córnea</i>	14
<i>Conjuntiva</i>	16
<i>Câmara anterior/Iris/Cristalino</i>	17
<i>Coroideia</i>	17
<i>Vítreo/Retina</i>	17
<i>Diagnóstico</i>	17
<i>Tratamento</i>	18
Transtirretina	18
Funções biológicas da transtirretina	19
Transtirretina no plasma	20
Transtirretina no pâncreas	20
Transtirretina na placenta	21
Transtirretina no cérebro	21
Transtirretina no olho	23
Variantes moleculares da transtirretina	25
Deposição de transtirretina	25
Amiloidose familiar associada mutação TTR V30M	26
<i>História</i>	26
<i>Hereditariedade, idade de início e distribuição geográfica</i>	26
<i>Manifestações Clínicas</i>	27
Tratamento da polineuropatia amiloidótica familiar	36
O transplante sequencial	38
Capítulo II	
Descrição das alterações oftalmológicas da PAF na população portuguesa	60
Capítulo III	
Impacto do transplante hepático na oculopatia	82
Capítulo IV	
Descrição de outras alterações: presbiopia e sensibilidade ao contraste espacial	104

Capítulo V	
Eritropoietina e neuroproteção no glaucoma	118
Capítulo VI	
Terapêutica da oculopatia da PAF	144
Capítulo VII	
Alterações oculares nos recetores de fígado PAF e risco de oculopatia	170
Capítulo VIII	
Discussão	
Manifestações oculares na PAF na população portuguesa	182
<i>Anomalias vasculares da conjuntiva</i>	183
<i>Queratoconjuntivite sicca e queratite neurotrófica</i>	184
<i>Anormalidades da íris</i>	186
<i>Alterações da cápsula anterior do cristalino</i>	187
<i>Amiloidose vítrea</i>	187
<i>Glaucoma</i>	189
<i>Angiopatia amiloidótica retiniana</i>	191
<i>Outras manifestações: sensibilidade ao contraste espacial e presbiopia</i>	193
Tratamento	198
<i>Olho seco</i>	198
<i>Amiloidose vítrea e glaucoma</i>	203
<i>Neuroproteção</i>	208
<i>Angiopatia amiloidótica da retina</i>	212
Transplante hepático e oculopatia	214
Oculopatia na PAF iatrogénica	219
Capítulo IX	
Conclusões	246
Capítulo X	
Perspetivas futuras	250
Resumo	251
Summary	257
Anexo	263

Abreviaturas mais utilizadas no texto

ARA - retinopatia amiloidótica
ATTRV30M - amiloidose por mutação de TTR com substituição valina por metionina
BHA - barreira hemato aquosa
BHR - barreira hemato retiniana
CPE - epitélio pigmentado ciliar
CSF - líquido cefalorraquidiano
DA - doença Alzheimer
DAI - deposição de amiloide na íris
DAL - deposição de amiloide no cristalino
DCL - distrofia corneana *lattice*
DMI - degenerescência relacionada com a idade
EOG - eletro-oculograma
EPO - eritropoietina
EPR - epitélio pigmentado da retina
ERG - eletrorretinograma
GPAA - glaucoma crônico primário de ângulo aberto
KO - knockout
mRNA- ácido ribonucleico mensageiro
NMDA - agonista exógeno do recetor do ácido glutâmico (glutamato) / aspartato
PAF - polineuropatia amiloidótica familiar
PEV - potenciais evocados visuais
PVR - proliferação vitreorretiniana
RBP - proteína transportadora do retinol
SNA - sistema nervoso autônomo
TAC - tomografia axial computadorizada
TTR - transtirretina
RMN - ressonância magnética nuclear

PREÂMBULO

Desde que iniciei a licenciatura em Medicina no Instituto de Ciências Biomédicas *Abel Salazar* / Hospital Geral de Santo António, uma das figuras sempre presentes, foi a do Dr. Corino de Andrade, ilustríssimo neurologista. A sua notável visão científica e dinamismo, catapultaram a humilde e escondida “doença dos pezinhos”, para um destaque a nível mundial, desencadeando uma reação em cadeia para novos conhecimentos patofisiológicos.

Após a entrada no Serviço de Oftalmologia, do Hospital Geral de Santo António, iniciei a observação e consulta dos doentes com polineuropatia amiloidótica familiar tipo português, com interesse crescente. Alguns apresentavam patologia oftalmológica gravíssima e algumas vezes estavam condenados à cegueira, de forma irreversível. Era uma luta desigual.

Com o início do transplante hepático, acreditou-se numa nova luz para o tratamento desta doença. No entanto, rapidamente surgiram, de todo o lado, relatos que a nível oftalmológico, a doença continuava a progredir. A culpa parecia ser da contínua produção endocular de transtirretina (TTR) mutante. Assim, continuaram a aparecer as opacidades vítreas, o glaucoma de difícil controlo, e o aparente aumento da sua frequência, consequência da maior sobrevida destes doentes.

A patologia oftalmológica deixou de ser secundária, como era para o doente, na época anterior ao transplante hepático, quando quase só se lutava pela vida. Passa, na era pós transplante, a estar na linha da frente, pois os doentes têm melhor qualidade de vida e as alterações oftalmológicas continuam a ser devastadoras.

Foi este o contexto, que me levou a sentir “obrigado” a aprofundar o meu conhecimento da oculopatia da polineuropatia amiloidótica familiar (PAF), caracterizando a sua evolução, as diferentes propostas terapêuticas e a sua eficácia, para poder ajudar a melhorar a sobrevida e a qualidade de vida destes doentes.

O futuro provavelmente dirá que fiz a escolha correta.

I → Introdução

Descrição das alterações oftalmológicas da PAF na população portuguesa

Impacto do transplante hepático na oculopatia

Descrição de outras alterações: Presbiopia e Sensibilidade ao Contraste

Eritropoietina e neuroproteção no glaucoma

Terapêutica da oculopatia da PAF

Alterações oculares de recetores de fígado PAF e risco de oculopatia

Discussão

Conclusões

Perspetivas futuras

I → Introdução

AMILOIDOSES

As amiloidoses constituem um grupo de doenças, que se caracterizam pela deposição anormal de agregados fibrilares insolúveis de uma proteína. A amiloidose pode ser localizada ou sistêmica, primária ou secundária. A classificação das amiloidoses baseia-se na natureza da proteína fibrilar. Estão descritas cerca de 27 proteínas humanas e oito animais, diferentes e não relacionadas, com capacidade amiloidogénica *in vivo* (1, 2).

Amiloide

Os depósitos de amiloide caracterizam-se pelas suas propriedades tintoriais únicas, que se devem à peculiar conformação do constituinte polipeptídico fundamental em folhas pregueadas beta (β), que se dispõem em camadas paralelas à direção da fibrila de amiloide, presas entre si por atrações eletroestáticas (3,4). Esta organização é comum a todas as fibras de amiloide, independentemente da natureza bioquímica. Inicialmente, a definição de amiloide encontrava-se restrita aos depósitos extracelulares, no entanto com a evidência de que certos tipos de amiloide têm origem intracelular, a definição foi alargada (1,5).

Amiloidoses

As amiloidoses podem ser divididas em dois grandes grupos: amiloidoses localizadas, com deposição de amiloide num único tecido ou órgão, e amiloidoses sistêmicas, com envolvimento de vários tecidos ou órgãos.

Quanto à etiologia, as amiloidoses podem ser classificadas como 1) primária, 2) secundária e, 3) hereditária. A nomenclatura em vigor faz a listagem de 27 proteínas diferentes capazes de causar doença amiloidótica. Foi demonstrado também que, pelo menos 6 outras proteínas, que aparecem em inclusões

intracelulares, com todas ou com algumas das propriedades características da amiloide (2).

Amiloidoses localizadas

De um modo geral, nas amiloidoses localizadas a proteína precursora é sintetizada localmente. Um exemplo é a A β -amiloide no cérebro, associada à doença de Alzheimer (6). Na Tabela 1 estão discriminadas as amiloidoses localizadas no Homem.

Tabela 1 – Amiloidoses localizadas. Adaptado de Westermarck *et al.* (6)

Amiloide	Proteína precursora	Síndrome ou tecido envolvido
α S	α – sinucleína	Doença de Parkinson
A β	Proteína precursora β amiloide	Doença de Alzheimer
AL	Cadeias leves das imunoglobulinas	Mieloma primário
AH	Cadeias pesadas das imunoglobulinas	Mieloma, amiloidose primária
AApoA1	Apolipoproteína A-1	Aorta, menisco
ADan	Precursor proteico ADan	Demência familiar dinamarquesa
APrP	Proteína prião	Encefalopatias espongiformes
ACal	Calcitonina	Tumores tiroideus de células-C
AIAPP	Polipeptídeo amiloide das Ilhotas de Langerhans	Insulinoma das ilhotas Langerhans
AANF	Fator natriurético atrial	Aurícula cardíaca
APro	Prolactina	Prolactinomas pituitários senis
AIns	Insulina	Iatrogénico
AMed	Lactaderina	Aorta senil
AKer	Querato-epitelina	Córnea
AOAAP	Proteína associada a meloblastoma odontogénico	Tumores odontogénicos
ALac	Lactoferrina	Córnea
ASeml	Semenogelina 1	Vesículas seminais
ATau	Tau	Doença Alzheimer, Demência fronto-temporal, envelhecimento

Amiloidoses sistêmicas

Nas amiloidoses sistêmicas, o precursor proteico é sintetizado em um ou mais locais e secretado para o plasma que o transporta para os diversos locais onde se deposita. Existe muitas vezes um padrão de deposição associado a um tipo específico de amiloidose, como é o caso da amiloidose familiar associada à transtirretina (ATTR) em que existe um atingimento preferencial do sistema nervoso periférico e autônomo. As causas para a maior afinidade para determinados tecidos, bem com a variabilidade da deposição interindividual com a mesma proteína precursora, ainda não estão completamente esclarecidos. A Tabela 2 apresenta a lista de proteínas humanas associadas a amiloidoses sistêmicas.

Tabela 2 – Precursores e proteínas fibrilares amiloidóticas das amiloidoses sistêmicas. Adaptado de Westermark *et al.* (6)

Amiloide	Proteína precursora	Síndrome ou tecido envolvido
ATTR	Transtirretina	Familiar, Senil
AL	Cadeias leves das imunoglobulinas	Mieloma, amiloidose primária
AH	Cadeias pesadas das imunoglobulinas	Mieloma, amiloidose primária
Aβ2M	β -2 microglobulina	Associada à diálise
AA	Proteína amiloide A sérica	Secundária, reativa
AApoAI	Apolipoproteína AI	Familiar
AApoAII	Apolipoproteína AII	Familiar
AApoAIV	Apolipoproteína AIV	Esporádica; Envelhecimento
AGel	Gelsolina	Familiar
ALys	Lisozima	Familiar
Alect2	Fator quimiotático leucocitário	Rim
AFib	Fibrinogénio (cadeia α)	Familiar
ACys	Cistatina C	Familiar
ABri	Proteína precursora Abri	Demência familiar inglesa

Amiloidose por Transtirretina

A transtirretina (TTR), nas suas formas selvagem e mutante, está associada a vários tipos de amiloidose sistêmica no homem: a polineuropatia amiloidótica

familiar (PAF) (7), a cardiomiopatia amiloidótica familiar (8) e a amiloidose senil sistêmica (9). Esta última associa-se à TTR não mutada ou selvagem e é a causa mais comum de amiloidose cardíaca, com uma frequência de cerca de 10 a 20 % na 9ª e 10ª década de vida (10,11).

As amiloidoses associadas a mutações da transtirretina são doenças hereditárias de transmissão autossômica dominante. Até à data, são conhecidas mais de 100 mutações amiloidogénicas de TTR (12), associadas na maior parte dos casos a neuropatia, mas também a cardiomiopatia (13), à síndrome do túnel cárpico (14), à amiloidose vítrea (15) e ao atingimento leptomeníngeo (16).

As manifestações oftalmológicas das amiloidoses

Os olhos podem ser o único órgão atingido ou fazer parte de um conjunto de órgãos envolvidos nas suas formas sistêmicas. O envolvimento oftalmológico pode ocorrer com vários tipos de amiloidose e provocar diferentes manifestações oftalmológicas com implicações terapêuticas distintas (Tabela 3).

Órbita e anexos oculares

A amiloidose periocular e orbitária é geralmente uma doença que progride de forma lenta e pode originar complicações oculares potencialmente graves.

Amiloidose cutânea palpebral

A forma localizada de amiloidose cutânea palpebral pode ocorrer na presença de vários tumores cutâneos, queratose actínica e dermatite seborreica. Este tipo de amiloidose é quase sempre subclínico e é um achado anatomopatológico (17,18). A amiloidose cutânea palpebral pode ser uma manifestação de amiloidose sistêmica, mais frequentemente a amiloidose AL, primária ou secundária a mieloma, e a sua presença pode ser importante para o diagnóstico sistémico (17, 19, 20). A púrpura hemorrágica espontânea das pálpebras, consequência da fragilidade vascular das veias cutâneas palpebrais associada à deposição de substância amiloide, é considerada como patognomónica da amiloidose sistémica adquirida e afeta até 15% dos doentes. Podem também

ocorrer depósitos céreos nas pálpebras (*waxy eyelids deposits*) e nódulos cutâneos perioculares (21, 22).

Tabela 3 - Apresentação da amiloidose nas diferentes estruturas oculares

Adaptado de Brownstein *et al.* (19).

ESTRUTURA	ATINGIMENTO	AMILOIDOSE	COMENTÁRIO
Pálpebras Orbita Anexos	Pápulas palpebrais céreas com purpura	Sistêmica primária	
	Proptose, diplopia, ptose, parésia acomodativa	Localizada primária, sistêmica primária	
	Queratoconjuntivite seca, massa pálpebra superior	Localizada primária, Localizada secundária, Sistêmica secundária	
Conjuntiva	Massa delimitada ou infiltrativa amarelada	Localizada primária, localizada secundária, sistêmica primária	
Córnea	Degenerescência amiloidótica polimórfica	Localizada primária	Secundária a efeitos climáticos
	Distrofia gelatinosa primária <i>tipo gota</i>	Localizada primária	Autossômica dominante
	Distrofia estromal <i>lattice</i> (tipo I, III)	Localizada primária	Autossômica dominante
	Distrofia estromal <i>lattice</i> (tipo II – Síndrome Meretoja)	Sistêmica primária	Autossômica dominante com sintomas sistêmicos
Câmara anterior, Iris	Glaucoma	Polineuropatia familiar	
	Amiloide iris, iris denteada	Polineuropatia familiar, Sistêmica primária	
Retina e Vítreo	Vítreo opaco, diminuição visão	Polineuropatia familiar I e II	

O atingimento da pele palpebral obriga à pesquisa de doença sistêmica pois o atingimento cutâneo palpebral é, frequentemente, sinal de amiloidose sistêmica primária. Por outro lado, o atingimento periocular sem envolvimento da pele palpebral indicia a presença de formas de amiloidose localizada.

Amiloidose orbitária

A amiloidose orbitária raramente origina manifestações clínicas, apesar de microscopicamente estar presente na maioria dos doentes. A amiloidose local ou sistêmica, raramente a forma familiar, pode infiltrar a estrutura orbitária, em particular a gordura orbitária, os músculos extraoculares e a glândula lacrimal. Os sintomas e os sinais associados podem ser ptose, queratoconjuntivite seca, proptose, distúrbios da motilidade ocular, lesões palpáveis e anormalidades dos reflexos pupilares, entre outros. A dor é um achado excecional e pode ajudar no diagnóstico diferencial com o pseudotumor inflamatório idiopático (21, 23). A tomografia axial computadorizada (TAC) e a ressonância magnética nuclear (RMN) mostram um aspeto inespecífico na amiloidose orbitária, embora a presença de calcificações intralesionais favoreça o seu diagnóstico (21, 23, 24).

Pode ocorrer lesão isolada do nervo ótico, só evidenciada no exame anatomopatológico (25). Como regra, a polineuropatia amiloidótica familiar (PAF) poupa o nervo ótico.

Córnea

A amiloidose corneana pode apresentar-se como depósitos, de padrão filamentosos ou nodular, de cor acinzentada, intraestromais ou subepiteliais. Os sintomas variam com o tamanho, o número e a localização dos depósitos. As manifestações clínicas apresentam-se com formas que vão, desde ausência de sintomas até ao atingimento grave da visão, consequência de erosões corneanas recorrentes dolorosas e opacificação corneana (26).

A forma mais comum de amiloidose corneana é a distrofia corneana *lattice* (DCL), com pelo menos 4 sub-tipos e grande heterogeneidade genética. O tipo I é causado por uma mutação no gene da queratoepitelina e não se associa a alterações sistémicas. As manifestações clínicas são precoces e a córnea apresenta linhas finas ramificadas tipo “lã de vidro”, localizadas centralmente no estroma, podendo originar perda da acuidade visual e erosões recorrentes, a partir da 4ª - 5ª década de vida. O tipo II da DCL (síndrome de Meretoja ou polineuropatia amiloidótica familiar tipo IV) é uma doença sistémica associada a uma mutação no gene da gelsolina. Os sintomas aparecem nos adultos jovens, com manifestações cutâneas (*cútis laxa*), nervosas (ataxia) e corneanas. Os doentes podem apresentar erosões corneanas recorrentes, diminuição da

sensibilidade corneana e perda da acuidade visual, numa faixa etária mais tardia. Há um risco aumentado de aparecimento de hipertensão ocular e glaucoma e, queratopatia neuroparalítica secundária à exposição ambiental por neuropatia do nervo facial. Os tipos III e IV são menos sintomáticos e manifestam-se mais tarde na vida do indivíduo (27). Ainda mais raros são os tipos V, VI e VII (28). A distrofia granular-*lattice* ou de Avelino apresenta alterações de ambas as distrofias (29).

A distrofia gelatinosa tipo gota aparece na primeira década de vida com fotofobia e perda de visão devido à deposição subepitelial progressiva de amiloide. Nas fases iniciais da doença, o diagnóstico diferencial com a queratopatia em banda pode ser difícil, no entanto a acumulação progressiva de amiloide origina nódulos com o aspeto de amora. Nos indivíduos submetidos a transplante de córnea, a amiloide que contém lactoferrina, pode aparecer de novo, no enxerto de córnea, em média a partir dos 5 anos. A degenerescência amiloide polimórfica é uma patologia idiopática caracterizada pela deposição de amiloide na córnea central com padrão punctiforme ou filamentoso. As manifestações clínicas aparecem em idades entre a 4ª e 6ª década de vida, contudo a sintomatologia é escassa (30).

A deposição secundária de amiloide na córnea pode ocorrer esporadicamente numa variedade de outras doenças corneanas, como o queratocone, as lesões pós-traumáticas, a fibroplasia retrolental, a queratite infecciosa e auto-imune e a queratopatia bolhosa. A identificação destes depósitos de amiloide é geralmente histológica e o significado permanece ainda por esclarecer (31, 32).

Resumidamente, as amiloidoses corneanas dividem-se em amiloidoses corneanas localizadas primárias (distrofia gelatinosa tipo gota, distrofia corneana *lattice* tipo I, III, IV, degenerescência amiloide polimórfica e queratopatia estromal climática), amiloidose corneana sistémica primária (distrofia corneana *lattice* tipo II ou PAF tipo IV ou síndrome de Meretoja) e amiloidose corneana localizada secundária. A amiloidose sistémica secundária nunca atinge a córnea (28). As características das amiloidoses corneanas hereditárias estão descritas na Tabela 4.

Tabela 4 – Amiloidose corneana hereditária. Adaptado de Klintworth *et al.* (28)

CARACTERÍSTICAS	Distrofia Corneana <i>Lattice</i>	Distrofia Corneana <i>Lattice</i>	Distrofia Corneana <i>Lattice</i>	Distrofia corneana gelatinosa tipo gota
	<i>Tipo I</i>	<i>Tipo II</i>	<i>Tipo III</i>	
Idade Início	<10 Anos	> 20 Anos	> 40 Anos	<20 Anos
Acuidade visual	40-60 Anos	>65 Anos	>60 Anos	10-30 Anos
Sistêmica	Não	Sim	Não	Não
Hereditariedade	AD	AD	AR	AR
Facies	Normal	Expressão facial tipo máscara, blefarocalasia, lábios grossos	Normal	Normal
Sistema nervoso	Normal	Paralisias periféricas e cranianas	Normal	Normal
Pele	Normal	Seca, escamosa, laxa com depósitos amiloide	Normal	Normal
Córnea	Interdigitação delicada de filamentos; Sem linhas visíveis até tarde	Linhas espessas e orientadas radialmente	Linhas espessas	Múltiplos nódulos subepiteliais proeminentes
Erosão recorrente	Sim	Sim	Não	Não

Conjuntiva

A amiloidose da conjuntiva geralmente ocorre após os 50 anos de idade, sem predileção de gênero, como uma lesão difusa ou bem circunscrita de cor avermelhada ou amarelo-rosada e não dolorosa. Os sintomas mais comuns são ptose, tumor visível ou palpável e hemorragia subconjuntival recorrente. Qualquer área da conjuntiva pode ser afetada, contudo são os fornixes,

particularmente o superior e a conjuntiva tarsal, os mais frequentemente atingidos. A amiloidose da conjuntiva, classicamente considerada como benigna, sem implicações locais e/ou sistêmicas, pode estar associada a amiloidose sistêmica em pelo menos 6 % dos doentes (33).

Câmara anterior / Iris / Cristalino

As alterações da íris, da câmara anterior e do cristalino são típicas da amiloidose familiar, pelo que são descritas em capítulo próprio, dedicado a esta amiloidose.

Coroideia

Apesar da elevada prevalência de depósitos microscópicos de amiloide na coroide de doentes com amiloidose AL sistêmica e amiloidose familiar, as manifestações clínicas são raras (34, 35).

Vítreo / Retina

As mutações de TTR são as responsáveis pela maioria dos casos de amiloidose vítrea, apesar de existirem descrições de casos sem mutação identificada (36). A amiloidose vítrea também foi descrita em doentes com amiloidose AL, com deposição a nível do vítreo, da retina e dos vasos retinianos (37). A descrição nos doentes com amiloidose por mutação de TTR com substituição de valina por metionina (ATTR 30M) será efectuada em capítulo respetivo.

Diagnóstico

O *gold-standard* do diagnóstico de amiloidose é a coloração com o vermelho do Congo, demonstrando a birrefringência verde maçã com filtros polarizados. Em doentes com doença orbitária e/ou conjuntival é sempre necessária a confirmação do diagnóstico por biópsia e, muito importante, a exclusão de doenças linfoproliferativas, além da exclusão de doença sistêmica (38).

O diagnóstico de amiloidose corneana normalmente é um diagnóstico de presunção, baseado na história clínica e familiar. A confirmação da doença corneana só é possível com o exame histopatológico da córnea, quando retirada por queratoplastia penetrante. O teste genético não é usado rotineiramente, para fins diagnósticos.

Nos casos de amiloidose intraocular, o doente deve ser sempre enviado para centros com experiência em doentes com amiloidose sistêmica.

Tratamento

Nos doentes com amiloidose localizada da órbita e/ou conjuntiva, assintomáticos ou oligosintomáticos, é indicada apenas vigilância oftalmológica periódica. A avaliação sistêmica dos doentes é mandatória. O diagnóstico de amiloidose periorbitária e/ou orbitária deverá ser feito por biópsia tecidual. Nos casos sintomáticos, com distúrbios da motilidade ocular, neuropatia ótica compressiva e/ou com uma alteração estética, a excisão cirúrgica total ou parcial poderá estar indicada. A longo prazo foram encontradas algumas recidivas. Em doentes com doença “mais infiltrativa”, ou com contraindicação cirúrgica, a radioterapia poderá ser utilizada (39).

Os doentes com amiloidose corneana e com alteração significativa da acuidade visual têm geralmente indicação para serem submetidos a transplante total de córnea ou da lamelar anterior profunda. A queratectomia fotorrefractiva apresenta maus resultados, pela remoção de amiloide quase sempre incompleta, originando astigmatismo irregular e com recorrência muito precoce (40). O tratamento da amiloidose intraocular será descrito mais à frente em capítulo próprio. Se houver envolvimento sistêmico, o tratamento da doença de base deverá ser realizado em paralelo com o das alterações oftalmológicas.

TRANSTIRRETINA

A transtirretina (TTR) é uma proteína plasmática, inicialmente denominada pre-albumina (41) devido ao seu padrão característico de migração antes da albumina na eletroforese das proteínas. A transtirretina foi inicialmente descoberta no líquido cefalorraquidiano (CSF) humano (42) e mais tarde no plasma (43, 44). Esta proteína é sintetizada principalmente no fígado (90 %) e nos plexos coroídeos. Também é produzida pelas células do epitélio pigmentado da retina, no pâncreas e na placenta (45-49). Trata-se de uma proteína com 127 aminoácidos, rica em triptofano (50), cuja estrutura foi descrita em 1974 por

Black *et al.* A proteína circula no plasma sob a forma de um tetrâmero, composto por 4 monómeros cuja massa total é de 59 980 daltons (51, 52).

Devido à sua função de transportadora da tiroxina foi apelidada de prealbumina fixadora da tiroxina. Posteriormente foi descoberto o seu papel no transporte da proteína transportadora do retinol (RBP) (53). Refletindo o seu papel fisiológico, a “*International Union of Biochemists*”, em 1981, adotou o nome de transtirretina (transportadora de *t*iroxina e *r*etinol).

Apesar de amplamente produzida no organismo, a TTR não é essencial à vida, pois ratos TTR *knockout* (KO) têm desenvolvimento fetal e esperança de vida praticamente normais (54). A TTR tem um *turnover* rápido com um tempo de semivida plasmático de 2 dias (55). A estrutura tridimensional da TTR tem sido mantida ao longo da evolução dos vertebrados e a sequência de aminoácidos do local de ligação da tiroxina é idêntica em todas as espécies estudadas até à data (56). O gene da TTR humana localiza-se no cromossoma 18 (18q11.2-q12.1) (57). A biologia da TTR está longe de ser completamente percebida e há evidência de que esta proteína, além de ser um transportador, pode atuar como uma protéase (58) e ter funções neuroprotetoras (59).

In vivo, a concentração sérica de TTR tem sido utilizada como marcador do estado nutricional / inflamatório numa variedade de condições (60-62).

Vários estudos em modelos animais evidenciaram o papel protetor da TTR na doença de Alzheimer (63,64), e o desenvolvimento de um fenótipo comportamental distinto na ausência da TTR (65).

Funções biológicas da transtirretina

As funções fisiológicas da TTR melhor estudadas são o transporte plasmático de tiroxina (66) e da proteína transportadora do retinol (RBP) (67). Mais recentemente, foi descrita a ligação da apolipoproteína A-1 à TTR plasmática (68), que pode decompor a apoA-1 num péptido menor (69). A descrição da presença de TTR em vários órgãos, por síntese local ou por transporte, sugere que esta proteína possui funções ainda não totalmente conhecidas.

Transtirretina no plasma

A TTR plasmática é sintetizada e secretada pelo fígado, podendo ser utilizada como marcador preditivo de insuficiência hepática no pós-operatório de doentes submetidos a ressecção hepática (70). A concentração plasmática normal, na espécie humana, varia entre 170 e 420 $\mu\text{g/mL}$ (71), mas pode diminuir no contexto de inflamação aguda ou crónica, má nutrição (61), e na presença de alguns tumores (72, 73).

A TTR plasmática transporta todo o RBP e cerca de 15 a 20% da tiroxina (74). Contudo em indivíduos saudáveis, a maioria da TTR circulante permanece livre de ligações, isto é, sem função aparente (75,76).

Os níveis plasmáticos de TTR estão diminuídos nos doentes portugueses com PAF, embora o nível de RBP e transporte de vitamina A se mantenham normais (77). Nos portadores assintomáticos da mutação TTR V30M, os níveis plasmáticos são normais e semelhantes à população normal (78).

Estudos *in vitro* revelaram que pequenas moléculas com estruturas variadas se conseguem ligar à TTR, algumas até estabilizando a estrutura quaternária, evitando a desestruturação e posterior agregação (79, 80). A capacidade de ligação da TTR a tão grande variedade de moléculas poderá possibilitar a circulação, ligados à TTR, de produtos de ocorrência natural com características químicas semelhantes, originadas da dieta ou da exposição ambiental. Há autores, que colocam a hipótese da TTR plasmática se poder ligar a várias moléculas que depois são transportadas quer para os hepatócitos, onde serão catabolizadas, quer para os rins, onde serão excretadas (63,81).

Transtirretina no pâncreas

A TTR é expressa nas ilhotas de Langerhans, pelas células pancreáticas produtoras de α -glucagão (82). A TTR expressa nas células alfa das ilhotas pancreáticas parece desempenhar um papel importante na homeostasia da glucose, através da regulação da expressão do glucagão (83). Apesar disso, até agora não foi detetada amiloide TTR nas células alfa e beta das ilhotas em doentes com PAF. Apenas foi detetada, nestes doentes, amiloide no parênquima do pâncreas exócrino e tecido conjuntivo (84, 85). Algumas publicações sugerem

que a TTR pode desempenhar um papel na patogénese da diabetes tipo 1 e tipo 2 (86-90).

Transtirretina na placenta

A placenta humana secreta TTR para a circulação materna e fetal, levantando a hipótese da TTR na circulação materna placentária pode ser absorvida pelos trofoblastos e translocada para a circulação fetal. Originando assim, um sistema de *shuttle* de TTR com significativa implicação fisiológica e patológica (91).

Transtirretina no cérebro

A função da TTR no cérebro era desconhecida até 1982, altura que foi demonstrada reatividade com um anticorpo anti-TTR nas placas cerebrais características da doença de Alzheimer (92), como também a sua positividade intraneuronal e vascular (63). No líquido cefalo-raquidiano (LCR), a TTR é a segunda proteína mais abundante (93).

Novas funções da TTR ao nível do sistema nervoso foram demonstradas e caracterizados em estudos com ratos TTR KO: a) ratos TTR KO apresentam uma lesão sensoriomotora (94) sugerindo que a TTR está envolvida nesta função; b) foi demonstrado, com tarefas *standard* usadas no estudo da depressão, da atividade exploratória e da ansiedade em ratos TTR KO, que a ausência de TTR está associada ao aumento da atividade exploratória e à diminuição de sinais de comportamento tipo depressivo (65); c) os ratos TTR KO apresentam níveis aumentados de neuropeptido Y como consequência do aumento da expressão da monoxigenase amidadora de glicinopeptidos (95), pelo que a TTR está envolvida na homeostasia do sistema nervoso, nomeadamente na maturação de neuropeptidos; d) ratos TTR KO apresentam uma capacidade regenerativa reduzida após lesão do nervo ciático, sugerindo um papel da TTR na regeneração nervosa (94); e) ratos jovens TTR KO têm alterações da memória de referência espacial, sugerindo que a TTR influencia este tipo de memória (96).

Há dados que sugerem um efeito neuroprotetor da TTR na isquemia cerebral, como o aumento da expressão de TTR após lesão do sistema nervoso central (97,98) e após isquemia transitória cerebral focal (99). Os ratos “propensos a acidente vascular cerebral (*stroke-prone*)” têm excreção urinária aumentada de TTR (100). A deposição preferencial da TTR no sistema nervoso periférico, como no caso da polineuropatia amiloidótica familiar (PAF), pode também sugerir a existência de uma função desta proteína no sistema nervoso.

Foram observados níveis diminuídos de TTR no liquor cefalorraquidiano na doença de Alzheimer (101), correlacionados negativamente com o grau de demência (102) e com a abundância de placas senis (103). Estes níveis mais reduzidos de TTR no LCR destes doentes foram confirmados com a utilização de técnicas como a proteômica comparativa (104). Posteriormente foi descrito que a TTR sequestra a amiloide A β , prevenindo a formação de amiloide *in vitro* (105). Foi proposto que doentes com doença de Alzheimer, de início tardio, poderiam apresentar um risco aumentado de formação de fibrilas de amiloide β associado à concentração insuficiente de TTR no LCR (106).

Jorgensen *et al.* em 1988 propuseram uma ligação entre a TTR e a depressão quando observaram níveis de TTR no LCR cerca de 7 % acima dos níveis observados em doentes com outras doenças psiquiátricas. As alterações foram parcialmente normalizadas durante a recuperação da depressão e colocou-se a hipótese de relação entre a depressão e a atividade aumentada do plexo coroideu (107). No entanto estes resultados não foram corroborados por outros autores que encontraram um nível diminuído de TTR no LCR em doentes com depressão, quando comparados com doentes com outras doenças neurológicas (108) e voluntários normais (109). O mecanismo exato do envolvimento da TTR na depressão ainda não foi determinado.

Na esquizofrenia, os níveis de TTR no LCR e no plasma encontram-se constantemente diminuídos em doentes durante a primeira crise não tratada, quando comparados com voluntários saudáveis. No entanto, foi sugerido que a regulação dos níveis de TTR no LCR é independente pois não foi encontrada correlação entre os valores no LCR e no plasma (110). O tratamento médico antipsicótico eficaz associou-se a um aumento da concentração da TTR plasmática nestes doentes não observado nos doentes que não responderam à

terapêutica, isto é, sem redução dos sintomas psiquiátricos (111). Estes dados suportam a importância da TTR na patofisiologia da esquizofrenia.

A TTR pode estar implicada também na patofisiologia da doença bipolar, uma vez que um estudo genético implicou o gene da TTR no *pedigree* de uma família dinamarquesa de doentes bipolares (112). A síntese de TTR nos plexos coróides estava diminuída após a administração crónica de lítio (113). Também os doentes com esclerose lateral amiotrófica apresentavam diminuição dos níveis de TTR no LCR quando comparados com os controlos (114).

A TTR está também aumentada no LCR dos doentes com demência frontotemporal (115). Na doença de Parkinson (em modelo animal) também se observou um aumento da concentração de TTR no LCR e no plasma (116).

Os estudos acima descritos mostram a possibilidade da TTR apresentar funções orgânicas adicionais, além de transportadora da tiroxina e do retinol.

Transtirretina no olho

O epitélio pigmentado da retina (EPR) é uma camada única de células responsável por várias atividades retinianas, incluindo a fagocitose dos segmentos externos dos fotorreceptores, da homeostasia do ferro e do ciclo visual transformando *all-trans*-retinol em *11-cis*-retinol. O EPR é o local da produção de TTR no olho.

O ácido ribonucleico mensageiro (mRNA) da TTR e do RBP são encontrados exclusivamente nas células do EPR, onde estas proteínas são sintetizadas e co-segregadas no lado apical da camada celular (48). Estas proteínas foram encontradas noutras células da retina, com deteção de imunoreactividade intensa para a TTR também no epitélio ciliar, no epitélio da íris, no endotélio corneano, na camada de fibras nervosas da retina, no vítreo e na cápsula do cristalino (117, 118). *In vitro*, o rácio de secreção de TTR/RBP para a matrix interfotorreceptor é de 50/1 (119). Se o mesmo ocorrer *in vivo* há um excesso de TTR na matrix interfotorreceptor com função desconhecida. A expressão de mRNA TTR nas células do EPR é a mais alta de todos os tecidos, com exceção do plexo coróideu (120).

Os ratos TTR KO submetidos a uma dieta regular em vitamina A apresentavam olhos anatomicamente normais e uma função visual sem alterações às 6

semanas de vida (electrorretinograma sem alterações significativas). Estes estudos sugerem que a presença da TTR não é essencial para o fornecimento de vitamina A ao olho (121).

A TTR pode estar associada a algumas alterações degenerativas oculares, como a catarata nuclear, que foi relacionada ao aporte proteico e a níveis séricos de TTR diminuídos (122).

A deposição de amiloide no vítreo ocorre nos doentes PAF, mesmo após a transplantação hepática. Apesar do papel da TTR no vítreo ainda não estar bem determinado, foi observado em olhos com miopia elevada (miopia > 6 dioptrias, comprimento axial > 26 mm) que a concentração de TTR vítrea era mais elevada no descolamento macular do que no buraco macular (1,1 vezes) e concentrações 4,1 vezes maiores do que os controlos não míopes (123). Os níveis de TTR, tal como a concentração de proteínas, também estão aumentados no humor aquoso de doentes com miopia elevada (124).

Os *drusen* são depósitos extracelulares encontrados na membrana de *Bruch*, que separa o EPR da coróide, e estão aumentados na degenerescência macular relacionada com a idade (DMI). As análises imunohistoquímicas dos *drusen* em doentes com DMI revelaram a presença de TTR, como componente *minor* (125). A circulação de TTR ligada ao RBP pode predispor à dissociação na altura da entrega do retinol ao EPR, com a subsequente geração de TTR monomérica, precursora dos agregados fibrilares.

Nos olhos com proliferação vitreorretiniana (PVR), a concentração de TTR no vítreo está aumentada (126). No vítreo recolhido de olhos submetidos a vitrectomia por descolamento macular, buraco macular e neovascularização coróideia, também se observaram concentrações de TTR significativamente mais elevadas do que nos controlos (123). Estes resultados sugerem uma relação entre os níveis elevados de TTR e a patogénese da PVR.

A alteração da acuidade visual pós-operatória apresenta uma correlação direta com os valores de TTR vítreos per-operatórios, no caso de doentes submetidos a vitrectomia (123, 127), o que sugere a utilização da concentração vítrea de TTR como marcador da função retiniana.

Os doentes com glaucoma crónico primário de ângulo aberto (GPAA) operados apresentam níveis de TTR no humor aquoso mais elevados do que os controlos, (128, 129), sugerindo a existência de uma relação entre as concentrações

elevadas de TTR e a patogénese do GPAA. A TTR poderá ter um papel iniciador no glaucoma através de um ciclo vicioso em espiral crescente de agressão do trabéculo, impedindo o livre escoamento do humor aquoso e originando aumento da pressão intraocular. Foi sugerido que o GPAA pudesse ser uma doença neurodegenerativa progressiva com um mecanismo fisiopatológico semelhante à da doença de Alzheimer (129, 130). Apesar de alguns autores relacionarem as duas patologias (131-134), um estudo longitudinal de 13 anos, recentemente publicado, mostra não existir relação positiva entre as duas patologias (135). No glaucoma congénito foi encontrada uma concentração de TTR no humor aquoso inferior aos dos controlos (136).

Variantes moleculares da TTR

Já foram descritas mais de 100 variantes de TTR, a maioria associadas a amiloidose (137). Todas as variantes de TTR conhecidas resultam da substituição ou da deleção de um aminoácido (138). A maioria das mutações amiloidogénicas está relacionada com neuropatias (139), mas também com cardiomiopatia (140, 141), síndrome do túnel cárpico (142, 143), atingimento leptomeníngeo (144-146) e deposição no vítreo (147, 148).

A variante mais comum em Portugal e no mundo é a TTR V30M (149). Está relacionada com a polineuropatia amiloidótica familiar tipo português (PAF). Foram descritas também mutações não amiloidogénicas, como a mutação TTR T119M, presente em 0,8 % da população portuguesa (150).

Deposição de transtirretina

A deposição de TTR foi descrita no coração, nos nervos autonómicos e periféricos, nos rins, nos vasos sanguíneos, na pele, no sistema digestivo e no vítreo, além de outros órgãos onde a TTR não é sintetizada. No fígado, o principal local de produção de TTR, não se observou deposição no seu parênquima, apenas nos vasos sanguíneos hepáticos (151).

AMILOIDOSE FAMILIAR ASSOCIADA À MUTAÇÃO TTR V30M

História

Em 1939, Corino de Andrade observou a primeira doente com sintomas diferentes dos habitualmente encontrados nas doenças neurológicas, mas foi em 1952, com a publicação na revista *Brain*, intitulada “*A peculiar form of peripheral neuropathy: familial atypical generalized amyloidosis with involvement of perioheral nerves*”, que perpetuou a descrição da doença associada à mutação da transtirretina V30M (7).

De 1952 até aos anos 80, multiplicaram-se os estudos multidisciplinares, muitos clínicos e epidemiológicos. Foi consolidado o conhecimento e a caracterização como doença sistémica e não apenas neurológica. Foram aparecendo novos focos longe de Vila do Conde / Póvoa do Varzim, como os de Unhais da Serra, da Figueira da Foz, do Cartaxo. Atualmente a doença encontra-se por todo o Portugal Continental, a ilha da Madeira e as ilhas dos Açores. Fora de Portugal, entre os anos 50 e os anos 80 foram descritos focos da doença no Japão, na Suécia e em Palma de Maiorca. Foram criados centros de investigação em todo o mundo.

A partir dos anos 80, o conhecimento sobre a “paramiloidose” cresce rapidamente, particularmente os conhecimentos de bioquímica e de genética molecular. O gene da TTR foi localizado no cromossoma 18 e caracterizada a mutação responsável pela doença nos doentes portugueses. Em 1991 houve uma nova esperança com o transplante hepático como tratamento da PAF, eficaz na alteração da história natural da doença. Recentemente novos tratamentos orais demonstraram eficácia.

Os obreiros do conhecimento da PAF vão ser muito citados nesta tese, principalmente os nossos doentes.

Hereditariedade, Idade Início e Distribuição Geográfica

A idade de início da doença PAF em Portugal é, em média, de $33,5 \pm 9,5$ anos (17 - 80 anos). A média de idades é diferente nos homens ($31,9 \pm 9,6$ anos) e nas mulheres ($35,6 \pm 9,0$ anos) (152). Estes doentes pertencem a cerca de 600 famílias e existem mais de 3000 portadores da doença. Na região onde foi

descrita inicialmente a PAF, a penetrância é praticamente completa e o início dos sintomas é quase sempre precoce. O início de doença também pode ser tardio ou pode mesmo nunca se manifestar. A apresentação tardia é mais frequente fora dos locais de elevada prevalência da doença (153). Nas famílias de casos tardios, geralmente há portadores assintomáticos idosos e a penetrância é incompleta. Em mais de 80% dos casos, os primeiros sintomas da doença surgem antes dos 40 anos de idade.

Nas famílias portuguesas foi demonstrado o efeito de antecipação da idade de início da doença, também já descrito em doentes suecos (154).

Manifestações Clínicas

Manifestações Neurológicas

A neuropatia da PAF caracteriza-se pelo envolvimento inicial das fibras não mielinizadas e pequenas fibras mielinizadas com posterior atingimento das grandes fibras (155). Trata-se de uma neuropatia predominantemente axonal do tipo “*dying-back*” (156) com atingimento das fibras autonómicas (157,158). A neuropatia inicia-se nos membros inferiores, é simétrica e tem progressão ascendente. Os sintomas mais frequentes e mais precoces são as alterações sensitivas, como as disestesias e a hipoestesia. Mais tarde, com a evolução da doença, aparecem as alterações motoras com paresia e atrofia muscular que, à semelhança das alterações sensitivas, também se iniciam nos membros inferiores e têm progressão ascendente. Nos doentes com início de doença tardio, uma forma de apresentação frequente é a dor neuropática (159).

O envolvimento do sistema nervoso autónomo manifesta-se por disfunção sexual (impotência), incontinência de esfínteres, perturbações cardiovasculares e gastrointestinais.

Manifestações Cardiovasculares

As manifestações cardíacas resultam da deposição de substância amiloide no coração, que provoca alterações da condução e cardiomiopatia. O atingimento do sistema nervoso autónomo (SNA), com envolvimento simpático e parassimpático, origina perturbações da pressão arterial e da frequência cardíaca, alterações mais frequentes e mais precoces (160,161). Clinicamente, o

doente pode apresentar disritmias, síncope e morte súbita, mas a insuficiência cardíaca é rara. A disfunção inicial é diastólica e só em fases muito evoluídas da doença se observa a disfunção sistólica (162). Outra característica comum, observada nestes doentes, é a hipotensão ortostática e a modificação do padrão circadiano habitual da pressão arterial, com o desaparecimento da descida normal durante a noite (163). Esta alteração de padrão poderá ter importância nos doentes com glaucoma.

Manifestações Osteo-articulares

Estão descritas múltiplas alterações osteoarticulares, nomeadamente neuroartropatia (articulações de Charcot) (164), hemartroses (165), hipertrofia dos ligamentos da coluna vertebral (166) e síndrome do túnel cárpico (167).

Manifestações Glândulas Endócrinas

Foi encontrada deposição de amiloide no pâncreas, mas sem atingimento das ilhotas de Langerhans (168). Há alteração da tolerância à glicose, apesar de os níveis de glicemia em jejum permanecerem dentro dos valores normais. Numa dose de sobrecarga de glicose, há uma resposta anormal da glicemia, da insulina e do glucagão, com hipoglicemia transitória e hiperinsulinemia (169).

Manifestações Renais

Na amiloidose TTR V30M, a deposição renal é principalmente medular, um padrão distinto das outras amiloidoses hereditárias. Este predominante envolvimento medular é clinicamente silencioso. O seu aparecimento pode ser precoce e manter-se único, até fases avançadas da doença (170). A deposição glomerular e vascular associa-se ao aparecimento de proteinúria e/ou insuficiência renal, existindo relação entre a intensidade dos depósitos e a gravidade da nefropatia (170). A microalbuminúria precede a proteinúria, que poderá ser marcada, e a insuficiência renal (171). Em doentes com PAF do Norte de Portugal, a nefropatia clínica está presente em 36% e em 12 % houve evolução para insuficiência renal crónica terminal. A nefropatia é mais frequente no sexo feminino e nos doentes com início de doença após os 40 anos de idade (início intermédio e início tardio). Há agregação familiar para o aparecimento de nefropatia e insuficiência renal crónica (172).

Manifestações Urogenitais

A disfunção erétil é a primeira manifestação da doença em cerca de 30 % dos homens e ao longo da doença é uma manifestação praticamente constante (173).

Os sintomas de disfunção vesical constituem a forma de apresentação clínica em 12% dos doentes (174) e são a incontinência e/ou retenção urinária, acompanhada por uma diminuição ou mesmo ausência de percepção de plenitude vesical e incapacidade de conseguir o esvaziamento completo da bexiga. O refluxo vesico-uretral também pode estar presente, provavelmente associado à paresia do destrusor e à hipertrofia da parede vesical (175).

Manifestações Hematológicas

Os doentes com PAF apresentam alterações da coagulação e da fibrinólise, nomeadamente a diminuição significativa dos níveis de fator X da coagulação, do plasminogénio e da α 2-antiplasmina e aumento significativo dos níveis do fragmento 1+2 de protrombina (176).

A anemia normocítica normocrómica é frequente nos doentes PAF, em alguns casos com deficiência de ferro associada e sem défice significativo de vitamina B12 e de ácido fólico. Foram encontrados níveis séricos inapropriadamente baixos de eritropoietina, mesmo em doentes sem insuficiência renal e mesmo numa fase pré-sintomática da doença (177, 178). A anemia melhora com a administração de eritropoietina (179), que também melhora a hipotensão ortostática.

Manifestações Cutâneas

Nos estádios mais avançados da doença, é frequente encontrar lesões dermatológicas tróficas. As mais frequentes são a xerose, a dermatite seborreica, as lesões traumáticas e queimaduras, a acne, as úlceras tróficas e a onicomicose. Em doentes transplantados, os diagnósticos mais frequentes são a dermatite seborreica e a acne (180).

Manifestações Gastrointestinais

As manifestações gastrointestinais são habitualmente atribuídas à neuropatia autonómica, e são concomitantes às primeiras manifestações neurológicas da

doença, em quase metade dos doentes, acabando por atingir ao longo da evolução da doença, todos os doentes (181). O primeiro sintoma é frequentemente a obstipação, seguindo-se a alternância de diarreia e de obstipação, e mais tarde a diarreia persistente. Além das alterações do trânsito intestinal, contribuem para o baixo índice de massa corporal destes doentes, as náuseas, os vômitos, a disfagia e a retenção gástrica (181).

Emagrecimento

A perda ponderal pode ser a manifestação inicial da doença. A maioria dos doentes perdeu cerca de 10 % de peso no primeiro ano de doença (182). O emagrecimento não estava relacionado com a idade de início da doença, com os sintomas iniciais (associados a mal absorção) ou com o tempo de evolução da neuropatia motora.

Manifestações Psicológicas e Psiquiátricas

A PAF, como as outras doenças genéticas de início tardio, colocam problemas específicos na adaptação à doença, do doente e da sua família, ao longo da vida. Por vezes, há uma sobrecarga que os torna mais vulneráveis ao descontrole emocional e à descompensação psiquiátrica, em vários momentos da evolução da doença (183).

Manifestações Oftalmológicas

A primeira descrição de algumas das manifestações da oculopatia na PAF foi efetuada por Corino de Andrade no seu artigo publicado no *Brain* (7), onde descreveu a íris denteada, a diminuição ou a ausência de reflexos pupilares e a resposta da pupila à instilação de atropina, mas não de pilocarpina.

Conjuntiva

A microangiopatia ocular é considerada por alguns autores a manifestação mais precoce da oculopatia da PAF, particularmente ao nível da conjuntiva. Os vasos anormais da conjuntiva são encontrados principalmente ao nível da área justa límbica, e praticamente inexistentes a nível da conjuntiva bulbar (184). As alterações na conjuntiva são visíveis ao exame na lâmpada de fenda sob a

forma de microaneurismas. Estas alterações são devidas à deposição de amiloide, mas também poderão estar associadas à disautonomia encontrada nos doentes PAF, pois foram encontradas alterações semelhantes em doentes com pandisautonomia (185). Na conjuntiva, os depósitos de amiloide são predominantemente encontrados nas paredes vasculares e na membrana basal do epitélio superficial (186). Segundo alguns autores, os microaneurismas da conjuntiva ocorrem, em média, aos 2,8 anos de doença e a frequência vai aumentando com o tempo de doença atingindo 100% após 10 anos de doença (185). A microangiopatia contribui para o aspeto permanente de olho vermelho em alguns doentes PAF.

Disfunção lacrimal

Os doentes PAF podem apresentar manifestações de olho seco. Nos doentes suecos, aos 8 anos de doença, a prevalência de olho seco era de 55 % dos doentes com início precoce e de menos de 15 % nos doentes com início tardio, sem predomínio de género (187). Nos doentes portugueses com PAF, a deficiência lacrimal é uma manifestação precoce e comum. Sá reportou a presença de olho seco, úlceras e vascularização corneana (188). Rasteiro reportou queratite neuroparalítica num doente PAF (188, 190). Nos doentes japoneses, o olho seco aparece, em média, aos 4,4 anos de doença e vai aumentando a frequência com cerca de 84 % dos doentes afetados aos 10 anos (191). Não foi encontrada deposição de amiloide a nível corneano.

As causas de olho seco nos doentes PAF são variadas e complexas. A causa primária da alteração da função lacrimal é a redução da secreção lacrimal, pela glândula lacrimal principal e pelas glândulas lacrimais acessórias, relacionada com o grau e com a duração da polineuropatia. Okajima *et al.* demonstrou que o defeito na função lacrimal era devido a um distúrbio nervoso parassimpático periférico, que inervava as glândulas lacrimais, e que uma injeção intramuscular de pilocarpina aumentava a secreção lacrimal, indiciando a presença de células secretoras intactas (192). Wong e McFarlin estudaram um doente com PAF e concluíram que as alterações da função lacrimal eram devidas à deposição de amiloide no gânglio ciliar, mas não demonstraram a deposição de amiloide na glândula lacrimal (193).

A perda da secreção lacrimal é atribuída maioritariamente ao atingimento do sétimo par craniano, nas suas fibras parassimpáticas, principalmente numa fase inicial. Nos casos de queratite severa, outros fatores podem contribuir para o mau prognóstico. Clinicamente, os olhos dos doentes em estadios avançados assemelham-se a queratopatia de exposição e/ou queratite neurotrófica. Além da produção lacrimal diminuída, há uma redução da sensibilidade corneana e diminuição do reflexo do pestanejo, tornando a córnea mais seca. Em casos extremos, pode haver perfuração corneana (194). Uma doença localizada da conjuntiva pode contribuir para os sintomas, embora os estudos em olhos com queratite severa tenham demonstraram a preservação das células caliciformes (184). Nos doentes PAF, a lágrima apresenta alteração qualitativa, com diminuição da concentração das proteínas (195).

A amiloide infiltra a glândula lacrimal, principalmente as paredes vasculares e o tecido intersticial em redor das glândulas tubuloalveolares, com subsequente atrofia. O atingimento das glândulas lacrimais contribui para a função lacrimal deficiente. A TTR não foi detetada nas lágrimas humanas (196).

Anexos oculares

Paralisia bilateral do facial e fasciculações podem ser observados em alguns doentes após o quinto ano de doença (197).

Movimentos oculares

Em estudos com doentes portugueses (197) e maiorquinos (198) com PAF, não foram encontradas alterações, nomeadamente diplopia, limitações nos movimentos oculares ou ptose.

Alterações pupilares

As alterações pupilares são conhecidas desde a descrição inicial da PAF. Além das alterações dos reflexos pupilares na dependência da disautonomia, foi descrita a iris denteada (7). Descrições posteriores por vários autores referiram também, estas alterações (191, 192, 199). Estas irregularidades continuaram a aparecer e a progredir mesmo após o transplante hepático, devido à produção endocular de TTR mutante (200).

Deposição amiloide cápsula anterior cristalino e bordo pupilar

Os depósitos na cápsula anterior do cristalino e no bordo pupilar foram inicialmente descritos por Sá (188), Andrade (209), Segawa (201) e Matsuo *et al.* (202). O material depositado apresenta as propriedades da amiloide, cora com o vermelho do Congo e reage com o soro anti-ATTR. Estes depósitos parecem preceder as opacidades vítreas (200), suportando a hipótese de Kawaji *et al.*, de que a origem da proteína acumulada no segmento anterior poderia ser originária do epitélio pigmentado ciliar e não do epitélio pigmentado retiniano (203).

A deposição de amiloide aparece e progride mesmo após o transplante hepático, o que sugere estar na dependência da produção endocular de TTR (200). Nos doentes suecos, este atingimento ocular parece ser mais frequente no sexo feminino (184).

Glaucoma

A primeira descrição da associação do glaucoma à PAF foi feita em 1958 por Kaufman (204). Posteriormente, esta associação foi referida por Paton *et al.* (205), Segawa (201) e Matsu *et al.* (202). Era referido que o glaucoma era uma manifestação tardia da PAF e que à observação oftalmológica o ângulo encontrava-se aberto e o trabéculo fortemente pigmentado. O endotélio trabecular estava completamente ocupado com fibrilas de amiloide e os espaços vazios das vias de escoamento do humor aquoso eram em número reduzido. Paton *et al.* (205), e Segawa (201) também relataram uma grande quantidade de fibras de amiloide no endotélio trabecular. Paton *et al.* (205) e Ferry (206) reportaram, que a infiltração de amiloide no trabéculo podia ser observada apenas nos olhos com glaucoma, mas não em olhos sem glaucoma. Um estudo de microscopia electrónica do trabéculo em olhos de doentes PAF com glaucoma, por Silva-Araujo *et al.* (207) sugeriu eventos mecânicos e neuropáticos como cofactores, responsáveis pelo aumento da resistência ao fluxo de humor aquoso e subida da pressão intraocular. No estudo, foi demonstrado que existia uma disrupção marcada dos trabéculo uveoescleral e corneoescleral e do tecido justacanalicular, devido ao acúmulo de fibras de amiloide nos espaços intertrabeculares, degenerescência das células endoteliais, placas de material tipo membrana basal, que preenchem os

espaços intertrabeculares ou invadiam o lúmen do canal de Schlemm e a degenerescência das fibras não mielinizadas.

Em Portugal, Coutinho *et al.* (208) observaram glaucoma em 7% de olhos que associaram à deposição de amiloide na íris e na cápsula anterior do cristalino, e à presença de opacidades vítreas (209). No Japão (210) e em outros países (211, 212), o glaucoma também foi associado à presença de opacidades vítreas. O glaucoma secundário à vitrectomia via *pars plana* em doentes com amiloidose vítrea não é incomum (213, 214).

Com o aumento da sobrevida permitido pelo transplante, o glaucoma deixou de ser uma condição rara em doentes com PAF que, necessitam, assim, de um acompanhamento frequente (215, 216).

Opacidades vítreas

Em 1953, Kantarjan e De Jong foram os primeiros a descrever as opacidades vítreas, num caso de amiloidose familiar (217). Acredita-se que a amiloidose vítrea está universalmente associada a mutações da transtirretina, podendo ser considerada uma manifestação clássica da PAF (218), embora tenha já sido descrita a sua ocorrência na ausência de mutação da TTR (219). Os sintomas visuais iniciais dos doentes com opacidades vítreas são miesodesopsias e posteriormente diminuição da acuidade visual. A deterioração visual pode ser rápida, com necessidade de vitrectomia no primeiro ano de evolução. Apesar de poderem surgir quase simultaneamente nos dois olhos, mais frequentemente afetam um olho e, em média até 4 anos depois, motivam a intervenção cirúrgica no segundo olho.

As opacidades vítreas foram o sintoma inaugural de PAF num doente espanhol (220) e em alguns doentes suecos e japoneses. Os doentes com amiloidose vítrea, em regra, tinham início tardio da doença e a presença de opacidades vítreas não tinha relação com a duração da doença ou com o género. Também se observou agregação familiar para as opacidades vítreas, o que sugere a presença de outros fatores modificadores. A média de idade dos doentes com opacidades vítreas é menor nos homozigóticos do que nos heterozigóticos (221, 222).

A formação de opacidades vítreas, com consequente diminuição da acuidade visual, é frequente na população portuguesa com PAF, podendo ser observada

segundo alguns autores, em 45 % de uma grande série de doentes (208). Mas, na maioria destes doentes as opacidades são relativamente discretas até a um estágio avançado da doença. Monteiro *et al.* descreveram alguns doentes portugueses com PAF em que a amiloidose vítrea precedeu os sintomas neurológicos da doença e também uma grande assimetria entre os olhos de cada doente (223).

Com o transplante hepático, a amiloidose vítrea não foi prevenida (224, 225), devido à produção endocular de TTR mutante pelo epitélio pigmentado (226).

A vitrectomia via *pars plana* tem excelentes resultados no tratamento da amiloidose vítrea nos doentes PAF (227 - 231) e foi descrita pela primeira vez por Kasner *et al.* em 1968 (232). Alguns autores (221, 228, 231) referem a necessidade de reoperação após alguns meses, por recidiva da amiloide vítrea, levando à necessidade de nova vitrectomia. Alguns dos doentes vitrectomizados desenvolveram glaucoma (233).

Retina

Alguns autores descreveram alterações retinianas em doentes PAF. Sandgren *et al.* referiu a suspeita de oclusão da veia central da retina num doente com PAF (184), mas não valorizou as alterações. Em doentes japoneses foram encontradas alterações retinianas em 21,6% dos doentes, mais frequentemente pequenas hemorragias retinianas, exsudados moles, neovascularização periférica da retina, hemorragia em chama de vela no disco ótico, aumento da tortuosidade dos vasos, alteração da relação arteriovenosa e endoftalmite fúngica (185, 191).

Num doente PAF mexicano de 52 anos foi descrito, como único sintoma oftalmológico, uma infiltração arteriolar retiniana periférica multifocal bilateral (234), achado também observado por Fall *et al.* (235). Num doente japonês de 49 anos foi descrito, após remoção das opacidades vítreas, a presença de hemorragias retinianas dispersas no fundo ocular. A angiografia fluoroscéinica demonstrou numerosos microaneurismas retinianos e ligeira deiscência do corante a partir dos vasos retinianos. A angiografia com verde indocianina demonstrou múltiplos locais de hiperfluorescência devido à impregnação ao longo dos vasos coróides principais. A hiperfluorescência é mais evidente na fase tardia dos angiogramas e como estes “*hot spots*” não expandem ao longo

do tempo, considera-se que revela a impregnação das paredes dos vasos coroideus, provavelmente devido à deposição de amiloide. Não parecem existir sintomas visuais neste envolvimento coroideu pela amiloide mas, parece ter sido a causa de uma oclusão aguda coroideia num doente de 43 anos hemodialisado (236).

A *rubeosis* da iris também já foi descrita, sugerindo acumulação da amiloide nos vasos retinianos, que também podem estar envolvidos na doença. Há descrição angiográfica da neovascularização retiniana que pode evoluir para glaucoma neovascular (237, 238).

Tratamento da Polineuropatia Amiloidótica Familiar

Na era do transplante hepático e do início da terapêutica medicamentosa da PAF, pode parecer que a doença está curada e que os doentes não necessitam de mais cuidados. No melhor dos cenários, quer o transplante hepático quer o tafamidis (Vyndaqel[®]), mantêm o doente no estágio em que iniciou a terapêutica, normalmente apresentando já défices autonómicos e neurológicos. Além disso, alguns doentes não terão indicação para tratamento específico, pelo que o tratamento de suporte manter-se-á relevante por muitos anos.

A PAF deve ser encarada como uma doença crónica. Aprender a viver com a doença, manter uma atitude positiva e aprender a contornar os problemas diariamente é essencial. A intervenção será sempre multidisciplinar entre especialidades médicas e não médicas.

Tratamento de suporte

O tratamento de suporte baseia-se em duas vertentes, a adaptação do estilo de vida e a terapêutica medicamentosa. Deve-se promover uma alimentação adaptada ao estado do doente e às queixas digestivas, evitar feridas e queimaduras, prevenir o agravamento da bexiga neurogénica e as infeções urinárias, manter a atividade física e combater a hipotensão ortostática.

O tratamento medicamentoso de suporte é dirigido para a dor nevralgica, a dismotilidade digestiva, as feridas e queimaduras, as infeções dos tecidos moles e a hipotensão ortostática entre outros.

Plasmaferese e imunoadsorção

Dois tipos de abordagens terapêuticas foram propostas para reduzir os níveis sanguíneos de TTR V30M de modo a evitar a deposição ou mesmo reduzir os depósitos existentes: a plasmaferese e a imunoadsorção. Existem várias descrições das duas técnicas (239, 240). Quer a plasmaferese, quer a imunoadsorção levantaram dúvidas quanto à eficácia, efeitos laterais, custos e previsibilidade. Com o advento do transplante hepático, estas técnicas foram abandonadas.

Transplante hepático

A substituição do fígado produtor de uma proteína anormal por um órgão sem essa alteração já tinha sido aplicada à hipercolesterolemia familiar e à hiperoxalose primária. A TTR é produzida na quase totalidade pelo fígado. O primeiro transplante hepático como tratamento da PAF foi efetuado na Suécia em 1990 (241, 242). Devido aos resultados promissores, nos anos seguintes houve um aumento exponencial da utilização do transplante hepático como tratamento da PAF em todo o mundo e em Portugal, onde foram realizados cerca de 50% do total dos transplantes.

Fármacos

A formação das fibras de amiloide tem várias etapas, cujo conhecimento poderá ajudar a delinear uma estratégia de inibição. Está descrito que o processo se inicia com a dissociação da TTR tetramérica dando origem a espécies monoméricas modificadas, que podem reassociar-se. A associação de monómeros dá origem a oligómeros não-fibrilares e à criação de protofilamentos que aumentam de tamanho, originando as fibras de amiloide (243, 244). As terapêuticas farmacológicas poderão atuar na fase inicial (estabilizando a estrutura tetramérica), atuar na fase de agregação ou na fase de crescimento das fibras de amiloide. Poderão aparecer fármacos que atuarão em mais do que uma das fases.

É referido que a ligação da tiroxina à TTR estabiliza a proteína (245). Substâncias que se ligam à TTR nesse local são candidatos a inibidores da

formação de substância amiloide. São exemplos os anti-inflamatórios não esteroides, particularmente o ácido flufenâmico (246, 247), o diclofenac (248) e o diflunisal (249). Mais recentemente foi demonstrada a eficácia terapêutica e segurança do tafamidis, um estabilizador oral da TTR, em ensaio clínico em doentes com PAF (250). Ainda não é possível determinar a sua eficácia na oculopatia da PAF.

Outra abordagem terapêutica passa pela interferência RNA (RNAi), uma ferramenta poderosa no silenciamento genético. Trata-se de um processo intracelular que promove a moderação da atividade dos genes. Pequenos RNA's de interferência (siRNA) ligam-se a RNA mensageiros específicos, diminuindo a sua atividade ou despoletando a sua degradação, evitando que a proteína seja produzida. O RNAi tornou-se uma técnica válida, quer para a biotecnologia quer para a medicina (251).

Recentemente foi publicado um artigo onde foi aplicada esta opção terapêutica à amiloidose por TTR (252). Ficou demonstrada a sua segurança e a eficácia na diminuição dos níveis séricos da TTR mutante e não mutante. A sua eficácia e segurança na oculopatia da PAF terão de ser demonstrada.

Reprodução medicamente assistida

Há mais de 20 anos que o diagnóstico genético pré-implantação é uma das opções disponíveis, para casais em risco de transmitir uma doença, para evitar o nascimento de uma criança com doença genética (253). A PAF, doença autossómica dominante causada pela mutação de um gene da TTR, é uma das indicações para recorrer a este método de reprodução medicamente assistida. Já recorreram a este método mais de uma dezena de casais.

O transplante sequencial

Em algumas áreas endémicas da PAF, o transplante hepático adicionou um número significativo de doentes às listas de espera e diminuiu as possibilidades de transplante hepático em doentes com prognóstico mais reservado. O número reduzido de órgãos e o número crescente de doentes em lista de espera levou à

proposta de técnicas alternativas como a transplantação “*split*”, o transplante de dador vivo e o transplante em dominó ou sequencial. No transplante sequencial, os órgãos explantados dos doentes PAF eram usados em doentes seleccionados. Os fígados de doentes PAF são normais, morfológica e funcionalmente, à exceção da produção da proteína anormal. Além disso, a doença metabólica do dador não deveria produzir sintomas nos recetores, por muitos anos. Tal como o transplante hepático de cadáver, o transplante dominó não expõe os recetores ou os dadores, a riscos cirúrgicos adicionais. A sobrevida dos recetores deverá ser semelhante, a morbilidade e mortalidade dos dadores e reduzida ao mínimo possível (254).

Já foram efectuados até à data mais de 1000 transplantes sequenciais de acordo com o *Domino Liver Transplant Registry* (255). Este procedimento levanta questões éticas e cirúrgicas. O mais importante princípio ético consiste no consentimento informado do dador e do recetor do órgão. Hoje, os transplantes hepáticos sequenciais são efetuados em doentes com cirrose por álcool e doenças infecciosas, carcinoma hepatocelular ou colangiocarcinoma. Os candidatos típicos são pacientes cuja condição vai provocar uma longa lista de espera: pacientes idosos (55-60 anos) com uma esperança de vida inferior ao tempo necessário para os sintomas da doença do dador se desenvolverem.

Tabela 5 - Doenças dos dadores de fígado utilizados no transplante sequencial

Doenças metabólicas	Hiperoxaliúria primária
	Porfíria Intermitente aguda
	Leucínose
Hipercolesterolémia familiar	
Polineuropatia amiloidótica familiar	

O transplante sequencial com um fígado de um paciente com PAF foi efetuado pela primeira vez por Furtado *et al.* em Outubro de 1995 (256). A PAF é a patologia mais frequente do dador de fígado usado no transplante dominó, mais frequente nas áreas onde a incidência da doença é maior (Portugal, Suécia e Japão). Até hoje, o transplante sequencial foi efetuado com sucesso em

múltiplos centros de transplantação em todo o mundo (257). As primeiras estimativas de risco de transferência da doença foram baseadas na história natural da PAF. Os sintomas clínicos da PAF levam pelo menos 20 anos a aparecer e é fatal cerca de 10 a 14 anos (258). No caso da PAF, a sobrevivência do recetor de fígado de cadáver ou de dominó, aos 3 meses e ao ano, não é significativamente diferente (259).

No entanto, foram aparecendo descrições do desenvolvimento *de novo* da PAF, após algum tempo de transplante. Stangou *et al.* (260) foi o primeiro a descrever o aparecimento de PAF *de novo* num recetor dominó em 2005. Tratava-se de um doente de 55 anos com polineuropatia clínica, confirmada por eletromiografia e biopsia de nervo, 8 anos após o transplante. Posteriormente, vários outros autores descreveram o aparecimento da PAF em recetores dominó (261, 262, 263). Estes autores concluíram, que a amiloidose sistémica *de novo* após o transplante dominó poderá ser mais frequente e aparecer mais cedo do que inicialmente se pensou.

É consensual, que os recetores dominó necessitam de um acompanhamento ao longo da vida. Com a seleção criteriosa dos candidatos para transplante hepático sequencial, a grande maioria dos recetores de fígado PAF nunca terão sintomas da doença. Assim, parece que o procedimento deve continuar (264).

Como passa a existir em circulação TTR mutante e há deposição demonstrada em vários tecidos, é teoricamente possível o atingimento oftalmológico dos recetores de fígado PAF, não só das alterações extraoculares, mas principalmente das temíveis complicações endoculares. Era importante o estudo e esclarecimento da possibilidade de aparecimento de oculopatia da PAF iatrogénica nestes doentes.

BIBLIOGRAFIA

1. Westermark P. Aspects on human amyloid forms and their fibril polypeptides. *FEBS J.* 2005; 272(23):5942-9
2. Sipe JD, Benson MD, Buxbaum JN, Ikeda S, Merlini G, Saraiva MJ, Westermark P. Amyloid fibril protein nomenclature: 2010 recommendations from the nomenclature committee of the International Society of Amyloidosis. *Amyloid.* 2010;17(3-4):101-4

3. Glenner GG. Amyloid deposits and amyloidosis. The beta-fibrilloses (first of two parts). *N Engl J Med*. 1980;302(23):1283-92
4. Glenner GG. Amyloid deposits and amyloidosis: the beta-fibrilloses (second of two parts). *N Engl J Med*. 1980; 302(24):1333-43
5. Teixeira PF, Cerca F, Santos SD, Saraiva MJ. Endoplasmic reticulum stress associated with extracellular aggregates. Evidence from transthyretin deposition in familial amyloid polyneuropathy. *J Biol Chem*. 2006; 281(31):21998-2003
6. Westermark P, Benson MD, Buxbaum JN, Cohen AS, Frangione B, Ikeda S, Masters CL, Merlini G, Saraiva MJ, Sipe JD. A primer of amyloid nomenclature. *Amyloid*. 2007; 14(3):179-83
7. Andrade C. A peculiar form of peripheral neuropathy; familial atypical generalized amyloidosis with special involvement of the peripheral nerves. *Brain*. 1952; 75(3):408-27
8. Nordlie M, Sletten K, Husby G, Ranløv PJ. A new prealbumin variant in familial amyloid cardiomyopathy of Danish origin. *Scand J Immunol*. 1988; 27(1):119-22
9. Cornwell GG 3rd, Sletten K, Johansson B, Westermark P. Evidence that the amyloid fibril protein in senile systemic amyloidosis is derived from normal prealbumin. *Biochem Biophys Res Commun*. 1988; 154(2):648-53
10. Tanskanen M, Peuralinna T, Polvikoski T, Notkola IL, Sulkava R, Hardy J, Singleton A, Kiuru-Enari S, Paetau A, Tienari PJ, Myllykangas L. Senile systemic amyloidosis affects 25% of the very aged and associates with genetic variation in alpha2-macroglobulin and tau: a population-based autopsy study. *Ann Med*. 2008; 40(3):232-9.
11. Lie JT, Hammond PI. Pathology of the senescent heart: anatomic observations on 237 autopsy studies of patients 90 to 105 years old. *Mayo Clin Proc*. 1988 Jun;63(6):552-64
12. Saraiva MJ. Transthyretin mutations in hyperthyroxinemia and amyloid diseases. *Hum Mutat*. 2001 Jun;17(6):493-503.
13. Saraiva MJ, Sherman W, Marboe C, Figueira A, Costa P, de Freitas AF, Gawinowicz MA Cardiac amyloidosis: report of a patient heterozygous for the transthyretin isoleucine 122 variant. *Scand J Immunol*. 1990 Oct;32(4):341-6
14. Izumoto S, Younger D, Hays AP, Martone RL, Smith RT, Herbert J. Familial amyloidotic polyneuropathy presenting with carpal tunnel syndrome and a new transthyretin mutation, asparagine 70. *Neurology*. 1992 Nov;42(11):2094-102
15. Salvi F, Salvi G, Volpe R, Mencucci R, Plasmati R, Michelucci R, Gobbi P, Santangelo M, Ferlini A, Forabosco A, et al. Transthyretin-related TTR hereditary amyloidosis of the vitreous body. Clinical and molecular characterization in two Italian families. *Ophthalmic Paediatr Genet*. 1993 Mar;14(1):9-16.
16. Petersen RB, Goren H, Cohen M, Richardson SL, Tresser N, Lynn A, Gali M, Estes M, Gambetti P. Transthyretin amyloidosis: a new mutation associated with dementia. *Ann Neurol*. 1997 Mar;41(3):307-13.
17. Rubinow A, Cohen AS. Skin involvement in generalized amyloidosis. A study of clinically involved and uninvolved skin in 50 patients with primary and secondary amyloidosis. *Ann Intern Med*. 1978 Jun;88(6):781-5
18. Campos EC, Melato M, Manconi R, Antonutto G. Pathology of ocular tissues in amyloidosis. *Ophthalmologica*. 1980;181(1):31-40
19. Brownstein MH, Elliott R, Helwig EB. Ophthalmologic aspects of amyloidosis. *Am J Ophthalmol*. 1970 Mar;69(3):423-30.

20. Lemke BN, Woog JJ, Stasior OG, Dortbach RK. Amyloidosis of the orbit and adnexa. In: Hornblass A, ed. *Oculoplastic, Orbital and Reconstructive Surgery: Orbit and Lacrimal System*. Baltimor: William & Wilkins; 1990. p: 907-14
21. Leibovitch I, Selva D, Goldberg RA, Sullivan TJ, Saeed P, Davis G, McCann JD, McNab A, Rootman J. Periocular and orbital amyloidosis: clinical characteristics, management, and outcome. *Ophthalmology*. 2006 Sep;113(9):1657-64
22. Rubinow A, Cohen AS. Skin involvement in generalized amyloidosis. A study of clinically involved and uninvolved skin in 50 patients with primary and secondary amyloidosis. *Ann Intern Med*. 1978 Jun;88(6):781-5
23. Taban M, Piva A, See RF, Sadun AA, Quiros PA. Review: orbital amyloidosis. *Ophthal Plast Reconstr Surg*. 2004 Mar;20(2):162-5.
24. Gonçalves AC, Moritz RB, Monteiro ML. Primary localized amyloidosis presenting as diffuse amorphous calcified mass in both orbits: case report. *Arq Bras Oftalmol*. 2011 Sep-Oct;74(5):374-6.
25. Lawton AW, Leone CR Jr, Hunter DM. Optic nerve pseudomeningioma secondary to localized amyloidosis. *Ophthal Plast Reconstr Surg*. 1989;5(1):52-5.
26. McPherson SD Jr, Kiffney GT Jr, Freed CC. Corneal amyloidosis. *Am J Ophthalmol*. 1966 Dec;62(6):1025-33.
27. Yao YF, Jin YQ, Zhang B, Zhou P, Zhang YM, Qiu WY, Mou SL, Wu LQ. Recurrence of lattice corneal dystrophy caused by incomplete removal of stroma after deep lamellar keratoplasty. *Cornea*. 2006 Dec; 25(10 Suppl 1):S41-6.
28. Klintworth GK. The molecular genetics of the corneal dystrophies – current status. *Front Biosci*. 2003 May 1; 8: 687-713.
29. Poulaki V, Colby K. Genetics of anterior and stromal corneal dystrophies. *Semin Ophthalmol*. 2008 Jan-Feb; 23(1):9-17.
30. Tsujikawa M. Gelatinous drop-like corneal dystrophy. *Cornea*. 2012 Nov;31 Suppl 1:S37-40.
31. Trikha S, Sahu D, Jeffry M, Boase D. Secondary corneal amyloidosis in keratoconus. *Cornea*. 2011 Jun;30(6):716-7.
32. Khalifa YM, Bloomer MM, Margolis TP. Secondary localized sectoral keratoconjunctival amyloidosis from ocular trauma. *Cornea*. 2010 Nov;29(11):1328-9.
33. Demirci H, Shields CL, Eagle RC Jr, Shields JA. Conjunctival amyloidosis: report of six cases and review of the literature. *Surv Ophthalmol*. 2006 Jul-Aug;51(4):419-33.
34. Cheung CM, Cheng CL, Farzavandi S. Retinal and choroidal angiopathy and electrophysiological disturbance in a case of amyloid AA. *Eye (Lond)*. 2010 Jun;24(6):1117-9.
35. Lemaitre-Labailly C, Bodaghi B, Cassoux N, Lehoang P. Acute choroidal closure caused by hemodialysis accident in an amyloidotic patient. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2006 Jun; 244(6):758-60.
36. Salvador F, Mateo C, Alegre J, Reventos A, García-Arumi J, Corcostegui B. Vitreous amyloidosis without systemic or familial involvement. *Int Ophthalmol*. 1993-1994; 17(6):355-7.
37. Hattori T, Shimada H, Yuzawa M, Kinukawa N, Fukuda T, Yasuda N. Needle-shaped deposits on retinal surface in a case of ocular amyloidosis. *Eur J Ophthalmol*. 2008 May-Jun; 18(3):473-5.
38. Gertz MA, Lacy MQ, Dispenzieri A, Hayman SR. Amyloidosis. *B Best Pract Res Clin Haematol*. 2005; 18(4):709-727.

39. Khaira M, Mutamba A, Meligonis G, Rose GE, Plowman PN, O'Donnell H. The use of radiotherapy for the treatment of localized orbital amyloidosis. *Orbit*. 2008;27(6):432-7.
40. John ME, Martinez E, Cvintal T, Ballew C. Excimer laser photoablation of primary familial amyloidosis of the cornea. *Refract Corneal Surg*. 1993 Mar-Apr;9(2 Suppl):S138-41.
41. Ingbar SH. Pre-albumin: a thyroxine-binding protein of human plasma. *Endocrinology*. 1958 Aug; 63(2):256-9.
42. Kabat EA, Moore DH, Landow H. An electrophoretic study of the protein components in cerebrospinal fluid and their relationship to the serum proteins. *J Clin Invest*. 1942 Sep; 21(5):571-7.
43. Seibert FB, Nelson JW. An electrophoretic study of the blood protein response in tuberculosis. *J Biol Chem*. 1942 143: 29-38.
44. Schonenberger M, Schultze HE, Schwick G. A prealbumin of human serum. *Biochem Z*. 1956; 328(4):267-84.
45. Aleshire SL, Bradley CA, Richardson LD, Parl FF. Localization of human prealbumin in choroid plexus epithelium. *J Histochem Cytochem*. 1983 May; 31(5):608-12.
46. Herbert J, Wilcox JN, Pham KT, Freneau RT Jr, Zeviani M, Dwork A, Soprano DR, Makover A, Goodman DS, Zimmerman EA, et al. Transthyretin: a choroid plexus-specific transport protein in human brain. *Neurology*. 1986 Jul; 36(7):900-11.
47. Jacobsson B, Collins VP, Grimelius L, Pettersson T, Sandstedt B, Carlström A. Transthyretin immunoreactivity in human and porcine liver, choroid plexus, and pancreatic islets. *J Histochem Cytochem*. 1989 Jan; 37(1):31-7.
48. Cavallaro T, Martone RL, Dwork AJ, Schon EA, Herbert J. The retinal pigment epithelium is the unique site of transthyretin synthesis in the rat eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1990 Mar 1; 31(3):497-501.
49. Mortimer RH, Landers KA, Balakrishnan B, Li H, Mitchell MD, Patel J, Richard K. Secretion and transfer of the thyroid hormone binding protein transthyretin by human placenta. *Placenta*. 2012 Apr; 33(4):252-6.
50. Kanda Y, Goodman DS, Canfield RE, Morgan FJ. The amino acid sequence of human plasma prealbumin. *J Biol Chem*. 1974 Nov 10; 249(21):6796-805.
51. Alvsaker JO, Haugli FB, Laland SG. The presence of vitamin A in human tryptophan-rich prealbumin. *Biochem J*. 1967 Jan; 102(1):362-6.
52. Blake CC, Geisow MJ, Swan ID, Rerat C, Rerat B. Structure of human plasma prealbumin at 2.5 Å resolution. A preliminary report on the polypeptide chain conformation, quaternary structure and thyroxine binding. *J Mol Biol*. 1974 Sep 5; 88(1):1-12.
53. Raz A, Goodman DS. The interaction of thyroxine with human plasma prealbumin and with the prealbumin-retinol-binding protein complex. *J Biol Chem*. 1969 Jun 25; 244(12):3230-7.
54. Episkopou V, Maeda S, Nishiguchi S, Shimada K, Gaitanaris GA, Gottesman ME, Robertson EJ. Disruption of the transthyretin gene results in mice with depressed levels of plasma retinol and thyroid hormone. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993 Mar 15; 90(6):2375-9.
55. Vahlquist A, Peterson PA, Wibell L. Metabolism of the vitamin A transporting protein complex. I. Turnover studies in normal persons and in patients with chronic renal failure. *Eur J Clin Invest*. 1973 Jul; 3(4):352-62.

56. Richardson SJ, Bradley AJ, Duan W, Wettenhall RE, Harms PJ, Babon JJ, Southwell BR, Nicol S, Donnellan SC, Schreiber G. Evolution of marsupial and other vertebrate thyroxine-binding plasma proteins. *Am J Physiol*. 1994 Apr; 266.
57. Wallace MR, Naylor SL, Kluve-Beckerman B, Long GL, McDonald L, Shows TB, Benson MD. Localization of the human prealbumin gene to chromosome 18. *Biochem Biophys Res Commun*. 1985 Jun 28; 129(3):753-8.
58. Liz MA, Faro CJ, Saraiva MJ, Sousa MM. Transthyretin, a new cryptic protease. *J Biol Chem*. 2004 May 14; 279(20):21431-8.
59. Said G. Familial amyloid polyneuropathy: mechanisms leading to nerve degeneration. *Amyloid*. 2003 Aug; 10 Suppl 1:7-12
60. Ingenbleek Y, Young VR. Significance of transthyretin in protein metabolism. *Clin Chem Lab Med*. 2002 Dec; 40(12):1281-91.
61. Ingenbleek Y, Young V. Transthyretin (prealbumin) in health and disease: nutritional implications. *Annu Rev Nutr*. 1994; 14:495-533.
62. Potter MA, Luxton G. Prealbumin measurement as a screening tool for protein calorie malnutrition in emergency hospital admissions: a pilot study. *Clin Invest Med*. 1999 Apr; 22(2):44-52.
63. Buxbaum JN, Ye Z, Reixach N, Friske L, Levy C, Das P, Golde T, Masliah E, Roberts AR, Bartfai T. Transthyretin protects Alzheimer's mice from the behavioral and biochemical effects of Abeta toxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 Feb 19; 105(7):2681-6.
64. Choi SH, Leight SN, Lee VM, Li T, Wong PC, Johnson JA, Saraiva MJ, Sisodia SS. Accelerated Abeta deposition in APP^{swe}/PS1^{deltaE9} mice with hemizygous deletions of TTR (transthyretin). *J Neurosci*. 2007 Jun 27; 27(26):7006-10.
65. Sousa JC, Grandela C, Fernández-Ruiz J, de Miguel R, de Sousa L, Magalhães AI, Saraiva MJ, Sousa N, Palha JA. Transthyretin is involved in depression-like behaviour and exploratory activity. *J Neurochem*. 2004 Mar; 88(5):1052-8.
66. Woeber KA, Ingbar SH. The contribution of thyroxine-binding prealbumin to the binding of thyroxine in human serum, as assessed by immunoadsorption. *J Clin Invest*. 1968 Jul; 47(7):1710-21.
67. Kanai M, Raz A, Goodman DS. Retinol-binding protein: the transport protein for vitamin A in human plasma. *J Clin Invest*. 1968 Sep; 47(9):2025-44.
68. Sousa MM, Berglund L, Saraiva MJ. Transthyretin in high density lipoproteins: association with apolipoprotein A-I. *J Lipid Res*. 2000 Jan; 41(1):58-65.
69. Liz MA, Faro CJ, Saraiva MJ, Sousa MM. Transthyretin, a new cryptic protease. *J Biol Chem*. 2004 May 14; 279(20):21431-8.
70. Huang L, Li J, Yan JJ, Liu CF, Wu MC, Yan YQ. Prealbumin is predictive for postoperative liver insufficiency in patients undergoing liver resection. *World J Gastroenterol*. 2012 Dec 21; 18(47):7021-5
71. Vatassery GT, Quach HT, Smith WE, Benson BA, Eckfeldt JH. A sensitive assay of transthyretin (prealbumin) in human cerebrospinal fluid in nanogram amounts by ELISA. *Clin Chim Acta*. 1991 Feb 28; 197(1):19-25.
72. Kozak KR, Su F, Whitelegge JP, Faull K, Reddy S, Farias-Eisner R. Characterization of serum biomarkers for detection of early stage ovarian cancer. *Proteomics*. 2005 Nov; 5(17):4589-96

73. Liu L, Liu J, Dai S, Wang X, Wu S, Wang J, Huang L, Xiao X, He D. Reduced transthyretin expression in sera of lung cancer. *Cancer Sci.* 2007 Oct; 98(10):1617-24
74. Schreiber G, Richardson SJ. The evolution of gene expression, structure and function of transthyretin. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.* 1997 Feb; 116(2):137-60.
75. Shoji S, Nakagawa S. Serum prealbumin and retinol-binding protein concentrations in Japanese-type familial amyloid polyneuropathy. *Eur Neurol.* 1988; 28(4):191-3.
76. Filteau SM, Willumsen JF, Sullivan K, Simmank K, Gamble M. Use of the retinol-binding protein: transthyretin ratio for assessment of vitamin A status during the acute-phase response. *Br J Nutr.* 2000 May;83(5):513-20.
77. Costa PP, Figueira AS, Bravo FR. Amyloid fibril protein related to prealbumin in familial amyloidotic polyneuropathy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1978 Sep; 75(9):4499-503.
78. Saraiva MJ, Costa PP, Goodman DS. Biochemical marker in familial amyloidotic polyneuropathy, Portuguese type. Family studies on the transthyretin (prealbumin)-methionine-30 variant. *J Clin Invest.* 1985 Dec; 76(6):2171-7.
79. Baures PW, Peterson SA, Kelly JW. Discovering transthyretin amyloid fibril inhibitors by limited screening. *Bioorg Med Chem.* 1998 Aug; 6(8):1389-401.
80. Johnson SM, Connelly S, Wilson IA, Kelly JW. Toward optimization of the linker substructure common to transthyretin amyloidogenesis inhibitors using biochemical and structural studies. *J Med Chem.* 2008 Oct 23;51(20):6348-58.
81. White JT, Kelly JW. Support for the multigenic hypothesis of amyloidosis: the binding stoichiometry of retinol-binding protein, vitamin A, and thyroid hormone influences transthyretin amyloidogenicity in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001 Nov 6;98(23):13019-24
82. Lv S, Gao J, Zhu F, Li Z, Gong Y, Xu G, Ma L. Transthyretin, identified by proteomics, is overabundant in pancreatic juice from pancreatic carcinoma and originates from pancreatic islets. *Diagn Cytopathol.* 2011 Dec;39(12):875-8.
83. Su Y, Jono H, Misumi Y, Senokuchi T, Guo J, Ueda M, Shinriki S, Tasaki M, Shono M, Obayashi K, Yamagata K, Araki E, Ando Y. Novel function of transthyretin in pancreatic alpha cells. *FEBS Lett.* 2012 Nov 30;586(23):4215-22.
84. Ando Y, Yi S, Nakagawa T, Ikegawa S, Hirota M, Miyazaki A, Araki S. Disturbed metabolism of glucose and related hormones in familial amyloidotic polyneuropathy: hypersensitivities of the autonomic nervous system and therapeutic prevention. *J Auton Nerv Syst.* 1991 Jul; 35(1):63-70.
85. Nagasaka T, Togashi S, Watanabe H, Iida H, Nagasaka K, Nakamura Y, Miwa M, Kobayashi F, Shindo K, Shiozawa Z. Clinical and histopathological features of progressive-type familial amyloidotic polyneuropathy with TTR Lys54. *J Neurol Sci.* 2009 Jan 15; 276(1-2):88-94.
86. Itoh N, Hanafusa T, Miyagawa J, Tamura S, Inada M, Kawata S, Kono N, Tarui S. Transthyretin (prealbumin) in the pancreas and sera of newly diagnosed type I (insulin-dependent) diabetic patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992 Jun; 74(6):1372-7.
87. Refai E, Dekki N, Yang SN, Imreh G, Cabrera O, Yu L, Yang G, Norgren S, Rössner SM, Inverardi L, Ricordi C, Olivecrona G, Andersson M, Jörnvall H, Berggren PO, Juntti-Berggren L. Transthyretin constitutes a functional component in pancreatic beta-cell stimulus-secretion coupling. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005 Nov 22; 102(47):17020-5.

88. Dowling P, Shields W, Rani S, Meleady P, Henry M, Jeppesen P, O'Driscoll L, Clynes M. Proteomic analysis of conditioned media from glucose responsive and glucose non-responsive phenotypes reveals a panel of secreted proteins associated with beta cell dysfunction. *Electrophoresis*. 2008 Nov; 29(20):4141-9.
89. Sundsten T, Eberhardson M, Göransson M, Bergsten P. The use of proteomics in identifying differentially expressed serum proteins in humans with type 2 diabetes. *Proteome Sci*. 2006 Dec 12; 4:22.
90. Sundsten T, Ostenson CG, Bergsten P. Serum protein patterns in newly diagnosed type 2 diabetes mellitus--influence of diabetic environment and family history of diabetes. *Diabetes Metab Res Rev*. 2008 Feb; 24(2):148-54.
91. Mortimer RH, Landers KA, Balakrishnan B, Li H, Mitchell MD, Patel J, Richard K. Secretion and transfer of the thyroid hormone binding protein transthyretin by human placenta. *Placenta*. 2012 Apr; 33(4):252-6.
92. Shirahama T, Skinner M, Westermarck P, Rubinow A, Cohen AS, Brun A, Kemper TL. Senile cerebral amyloid. Prealbumin as a common constituent in the neuritic plaque, in the neurofibrillary tangle, and in the microangiopathic lesion. *Am J Pathol*. 1982 Apr; 107(1):41-50.
93. Ando Y. Transthyretin: its miracle function and pathogenesis. *Rinsho Byori*. 2009 Mar; 57(3):228-35.
94. Fleming CE, Saraiva MJ, Sousa MM. Transthyretin enhances nerve regeneration. *J Neurochem*. 2007 Oct; 103(2):831-9.
95. Nunes AF, Saraiva MJ, Sousa MM. Transthyretin knockouts are a new mouse model for increased neuropeptide Y. *FASEB J*. 2006 Jan; 20(1):166-8.
96. Sousa JC, Marques F, Dias-Ferreira E, Cerqueira JJ, Sousa N, Palha JA. Transthyretin influences spatial reference memory. *Neurobiol Learn Mem*. 2007 Oct; 88(3):381-5.
97. Young B, Ott L, Kasarskis E, Rapp R, Moles K, Dempsey RJ, Tibbs PA, Kryscio R, McClain CZ. Zinc supplementation is associated with improved neurologic recovery rate and visceral protein levels of patients with severe closed head injury. *J Neurotrauma*. 1996 Jan; 13(1):25-34.
98. Liverman CS, Cui L, Yong C, Choudhuri R, Klein RM, Welch KM, Berman NE. Response of the brain to oligemia: gene expression, c-Fos, and Nrf2 localization. *Brain Res Mol Brain Res*. 2004 Jul 5; 126(1):57-66.
99. Suzuyama K, Shiraishi T, Oishi T, Ueda S, Okamoto H, Furuta M, Mineta T, Tabuchi K. Combined proteomic approach with SELDI-TOF-MS and peptide mass fingerprinting identified the rapid increase of monomeric transthyretin in rat cerebrospinal fluid after transient focal cerebral ischemia. *Brain Res Mol Brain Res*. 2004 Oct 22; 129(1-2):44-53.
100. Sironi L, Tremoli E, Miller I, Guerrini U, Calvio AM, Eberini I, Gemeiner M, Asdente M, Paoletti R, Gianazza E. Acute-phase proteins before cerebral ischemia in stroke-prone rats: identification by proteomics. *Stroke*. 2001 Mar; 32(3):753-60.
101. Elovaara I, Maury CP, Palo J. Serum amyloid A protein, albumin and prealbumin in Alzheimer's disease and in demented patients with Down's syndrome. *Acta Neurol Scand*. 1986 Sep; 74(3):245-50.
102. Riisøen H. Reduced prealbumin (transthyretin) in CSF of severely demented patients with Alzheimer's disease. *Acta Neurol Scand*. 1988 Dec; 78(6):455-9.

103. Merched A, Serot JM, Visvikis S, Aguillon D, Faure G, Siest G. Apolipoprotein E, transthyretin and actin in the CSF of Alzheimer's patients: relation with the senile plaques and cytoskeleton biochemistry. *FEBS Lett.* 1998 Mar 27; 425(2):225-8.
104. Castaño EM, Roher AE, Esh CL, Kokjohn TA, Beach T. Comparative proteomics of cerebrospinal fluid in neuropathologically-confirmed Alzheimer's disease and non-demented elderly subjects. *Neurol Res.* 2006 Mar; 28(2):155-63.
105. Schwarzman AL, Gregori L, Vitek MP, Lyubski S, Strittmatter WJ, Enghilde JJ, Bhasin R, Silverman J, Weisgraber KH, Coyle PK, et al. Transthyretin sequesters amyloid beta protein and prevents amyloid formation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994 Aug 30; 91(18):8368-72.
106. Serot JM, Christmann D, Dubost T, Couturier M. Cerebrospinal fluid transthyretin: aging and late onset Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1997 Oct; 63(4):506-8.
107. Jørgensen OS. Neural cell adhesion molecule (NCAM) and prealbumin in cerebrospinal fluid from depressed patients. *Acta Psychiatr Scand Suppl.* 1988; 345:29-37.
108. Hatterer JA, Herbert J, Hidaka C, Roose SP, Gorman JM. CSF transthyretin in patients with depression. *Am J Psychiatry.* 1993 May; 150(5):813-5.
109. Sullivan GM, Hatterer JA, Herbert J, Chen X, Roose SP, Attia E, Mann JJ, Marangell LB, Goetz RR, Gorman JM. Low levels of transthyretin in the CSF of depressed patients. *Am J Psychiatry.* 1999 May; 156(5):710-5.
110. Huang JT, Leweke FM, Oxley D, Wang L, Harris N, Koethe D, Gerth CW, Nolden BM, Gross S, Schreiber D, Reed B, Bahn S. Disease biomarkers in cerebrospinal fluid of patients with first-onset psychosis. *PLoS Med.* 2006 Nov; 3(11):e428.
111. Wan C, Yang Y, Li H, La Y, Zhu H, Jiang L, Chen Y, Feng G, He L. Dysregulation of retinoid transporters expression in body fluids of schizophrenia patients. *J Proteome Res.* 2006 Nov; 5(11):3213-6.
112. Ewald H, Mors O, Koed K, Eiberg H, Kruse TA. Susceptibility loci for bipolar affective disorder on chromosome 18? A review and a study of Danish families. *Psychiatr Genet.* 1997 Spring; 7(1):1-12.
113. Pulford DJ, Adams F, Henry B, Mallinson DJ, Reid IC, Stewart CA. Chronic lithium administration down regulates transthyretin mRNA expression in rat choroid plexus. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2006 Dec; 2(4):549-55.
114. Ranganathan S, Williams E, Ganchev P, Gopalakrishnan V, Lacomis D, Urbinelli L, Newhall K, Cudkowicz ME, Brown RH Jr, Bowser R. Proteomic profiling of cerebrospinal fluid identifies biomarkers for amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurochem.* 2005 Dec; 95(5):1461-71.
115. Hansson SF, Puchades M, Blennow K, Sjögren M, Davidsson P. Validation of a prefractionation method followed by two-dimensional electrophoresis - Applied to cerebrospinal fluid proteins from frontotemporal dementia patients. *Proteome Sci.* 2004 Nov 18; 2(1):7.
116. Rite I, Argüelles S, Venero JL, García-Rodríguez S, Ayala A, Cano J, Machado A. Proteomic identification of biomarkers in the cerebrospinal fluid in a rat model of nigrostriatal dopaminergic degeneration. *J Neurosci Res.* 2007 Dec; 85(16):3607-18.

117. Dwork AJ, Cavallaro T, Martone RL, Goodman DS, Schon EA, Herbert J. Distribution of transthyretin in the rat eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1990 Mar 1; 31(3):489-96.
118. Ramakrishnan S, Sulochana KN, Parikh S, Punitham R. Transthyretin (prealbumin) in eye structures and variation of vitreous-transthyretin in diseases. *Indian J Ophthalmol*. 1999 Mar; 47(1):31-4.
119. Ong DE, Davis JT, O'Day WT, Bok D. Synthesis and secretion of retinol-binding protein and transthyretin by cultured retinal pigment epithelium. *Biochemistry*. 1994 Feb 22; 33(7):1835-42.
120. Pfeffer BA, Becerra SP, Borst DE, Wong P. Expression of transthyretin and retinol binding protein mRNAs and secretion of transthyretin by cultured monkey retinal pigment epithelium. *Mol Vis*. 2004 Jan 14; 10:23-30.
121. Bui BV, Armitage JA, Fletcher EL, Richardson SJ, Schreiber G, Vingrys AJ. Retinal anatomy and function of the transthyretin null mouse. *Exp Eye Res*. 2001 Nov; 73(5):651-9.
122. Delcourt C, Dupuy AM, Carriere I, Lacroux A, Cristol JP; Pathologies Oculaires Liées à l'Age study group. Albumin and transthyretin as risk factors for cataract: the POLA study. *Arch Ophthalmol*. 2005 Feb; 123(2):225-32.
123. Shao J, Xin Y, Yao Y. Correlation of misfolded transthyretin in abnormal vitreous and high myopia related ocular pathologies. *Clin Chim Acta*. 2011 Nov 20; 412(23-24):2117-21.
124. Duan X, Lu Q, Xue P, Zhang H, Dong Z, Yang F, Wang N. Proteomic analysis of aqueous humor from patients with myopia. *Mol Vis*. 2008 Mar 3; 14:370-7.
125. Mullins RF, Russell SR, Anderson DH, Hageman GS. Drusen associated with aging and age-related macular degeneration contain proteins common to extracellular deposits associated with atherosclerosis, elastosis, amyloidosis, and dense deposit disease. *FASEB J*. 2000 May; 14(7):835-46.
126. Chen GH, Li T, Zheng QX, Hou JP, Tang SB, Li WS. Differential expression and significance of complement C4b and transthyretin in proliferative vitreoretinopathy. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi*. 2011 Aug; 47(8):726-31.
127. Van Aken E, De Letter EA, Veckeneer M, Derycke L, van Enschot T, Geers I, Delanghe S, Delanghe JR. Transthyretin levels in the vitreous correlate with change in visual acuity after vitrectomy. *Br J Ophthalmol*. 2009 Nov; 93(11):1539-45.
128. Duan X, Xue P, Wang N, Dong Z, Lu Q, Yang F. Proteomic analysis of aqueous humor from patients with primary open angle glaucoma. *Mol Vis*. 2010 Dec 18; 16:2839-46.
129. Grus FH, Joachim SC, Sandmann S, Thiel U, Bruns K, Lackner KJ, Pfeiffer N. Transthyretin and complex protein pattern in aqueous humor of patients with primary open-angle glaucoma. *Mol Vis*. 2008 Aug 4; 14:1437-45.
130. Infante-Duarte C, Waiczies S, Wuerfel J, Zipp F. New developments in understanding and treating neuroinflammation. *J Mol Med (Berl)*. 2008 Sep; 86(9):975-85.
131. Tian T, Liu YH. Normal-tension glaucoma and Alzheimer's disease: retinal vessel signs as a possible common underlying risk factor. *Med Hypotheses*. 2011 Sep; 77(3):466.
132. Phillips EC. Alzheimer's disease and glaucoma. *Br J Ophthalmol*. 2011 Jan; 95(1):152.

133. Wostyn P, Audenaert K, De Deyn PP. Alzheimer's disease: cerebral glaucoma? *Med Hypotheses*. 2010 Jun; 74(6):973-7.
134. Wostyn P, Audenaert K, De Deyn PP. Alzheimer's disease and glaucoma: is there a causal relationship? *Br J Ophthalmol*. 2009 Dec; 93(12):1557-9 13.
135. Ou Y, Grossman DS, Lee PP, Sloan FA. Glaucoma, Alzheimer disease and other dementia: a longitudinal analysis. *Ophthalmic Epidemiol*. 2012 Oct; 19(5):285-92.
136. Bouhenni RA, Al Shahwan S, Morales J, Wakim BT, Chomyk AM, Alkuraya FS, Edward DP. Identification of differentially expressed proteins in the aqueous humor of primary congenital glaucoma. *Exp Eye Res*. 2011 Jan; 92(1):67-75.
137. Saraiva MJ. Hereditary transthyretin amyloidosis: molecular basis and therapeutical strategies. *Expert Rev Mol Med*. 2002 May 14; 4(12):1-11.
138. Uemichi T, Liepnieks JJ, Benson MD. A trinucleotide deletion in the transthyretin gene (delta V 122) in kindred with familial amyloidotic polyneuropathy. *Neurology*. 1997 Jun; 48(6):1667-70.
139. Saraiva MJ. Transthyretin mutations in hyperthyroxinemia and amyloid diseases. *Hum Mutat*. 2001 Jun; 17(6):493-503.
140. Saraiva MJ, Sherman W, Marboe C, Figueira A, Costa P, de Freitas AF, Gawinowicz MA. Cardiac amyloidosis: report of a patient heterozygous for the transthyretin isoleucine 122 variant. *Scand J Immunol*. 1990 Oct; 32(4):341-6.
141. Saito F, Nakazato M, Akiyama H, Kitahara Y, Date Y, Iwasaki Y, Harasawa S, Hisaki R, Horie T, Kinukawa N, Watanabe T, Sakamaki T, Yagi H, Hoshii Y, Yutani C, Kanmatsuse K. A case of late onset cardiac amyloidosis with a new transthyretin variant (lysine 92). *Hum Pathol*. 2001 Feb; 32(2):237-9.
142. Izumoto S, Younger D, Hays AP, Martone RL, Smith RT, Herbert J. Familial amyloidotic polyneuropathy presenting with carpal tunnel syndrome and a new transthyretin mutation, asparagine 70. *Neurology*. 1992 Nov; 42(11):2094-102.
143. Murakami T, Tachibana S, Endo Y, Kawai R, Hara M, Tanase S, Ando M. Familial carpal tunnel syndrome due to amyloidogenic transthyretin His 114 variant. *Neurology*. 1994 Feb; 44(2):315-8.
144. Petersen RB, Goren H, Cohen M, Richardson SL, Tresser N, Lynn A, Gali M, Estes M, Gambetti P. Transthyretin amyloidosis: a new mutation associated with dementia. *Ann Neurol*. 1997 Mar; 41(3):307-13.
145. Brett M, Persey MR, Reilly MM, Revesz T, Booth DR, Booth SE, Hawkins PN, Pepys MB, Morgan-Hughes JA. Transthyretin Leu12Pro is associated with systemic, neuropathic and leptomeningeal amyloidosis. *Brain*. 1999 Feb; 122 (Pt 2):183-90.
146. Yazak M, Take YI, Katoh M, Ikeda SI. Postmortem findings in two familial amyloidosis patients with transthyretin variant Asp38Ala. *Amyloid*. 2000 Dec; 7(4):270-7.
147. Salvi F, Salvi G, Volpe R, Mencucci R, Plasmati R, Michelucci R, Gobbi P, Santangelo M, Ferlini A, Forabosco A, et al. Transthyretin-related TTR hereditary amyloidosis of the vitreous body. Clinical and molecular characterization in two Italian families. *Ophthalmic Paediatr Genet*. 1993 Mar; 14(1):9-16.
148. Zólyomi Z, Benson MD, Halász K, Uemichi T, Fekete G. Transthyretin mutation (serine 84) associated with familial amyloid polyneuropathy in a Hungarian family. *Amyloid*. 1998 Mar; 5(1):30-4.

149. Saraiva MJ, Costa PP, Birken S, Goodman DS. Presence of an abnormal transthyretin (prealbumin) in Portuguese patients with familial amyloidotic polyneuropathy. *Trans Assoc Am Physicians*. 1983; 96:261-70.
150. Alves IL, Altland K, Almeida MR, Winter P, Saraiva MJ. Screening and biochemical characterization of transthyretin variants in the Portuguese population. *Hum Mutat*. 1997; 9(3):226-33.
151. Buxbaum JN (2007) Transthyretin and the transthyretin amyloidosis. In: Uversky VN, Fink A (ds) Protein misfolding, aggregation and conformational diseases. Springer, Santa Cruz, pp: 259-283T
152. Sousa A. A variabilidade fenotípica de polineuropatia amiloidótica familiar: um estudo de genética quantitativa em Portugal e na Suécia. 1996. *Tese de Doutoramento*, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto.
153. Coelho T, Sousa A, Lourenço E, Ramalheira J. A study of 159 Portuguese patients with familial amyloidotic polyneuropathy (FAP) whose parents were both unaffected. *J Med Genet*. 1994 Apr;31(4):293-9.
154. Lemos C, Coelho T, Alves-Ferreira M, Martins-da-Silva A, Sequeiros J, Mendonça D, Sousa A. Overcoming artefact: anticipation in 284 Portuguese kindreds with familial amyloid polyneuropathy (FAP) ATTRV30M. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2013 Sep 17.
155. Coimbra A, Andrade C. Familial amyloid polyneuropathy: an electron microscope study of the peripheral nerve in five cases. I. Interstitial changes. *Brain*. 1971;94(2):199-206.
156. Luís ML. Electroneurophysiological studies in familial amyloid polyneuropathy--Portuguese type. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1978 Sep; 41(9):847-50.
157. Canijo M, Andrade C. Familial amyloidotic polyneuropathy. Electromyographic study. *J Genet Hum*. 1969 Oct; 17(3):281-8.
158. Alves M, Conceição I, Luis ML. Neurophysiological evaluation of sexual dysfunction in familial amyloidotic polyneuropathy--Portuguese type. *Acta Neurol Scand*. 1997 Sep;96(3):163-6.
159. Koike H, Misu K, Ikeda S, Ando Y, Nakazato M, Ando E, Yamamoto M, Hattori N, Sobue G; Study Group for Hereditary Neuropathy in Japan. Type I (transthyretin Met30) familial amyloid polyneuropathy in Japan: early- vs late-onset form. *Arch Neurol*. 2002 Nov; 59(11):1771-6.
160. Ducla-Soares J, Alves MM, Carvalho M, Póvoa P, Conceição I, Sales Luis ML. Correlation between clinical, electromyographic and dysautonomic evolution of familial amyloidotic polyneuropathy of the Portuguese type. *Acta Neurol Scand*. 1994 Oct; 90(4):266-9.
161. Freitas J, Almeida J, Silva AO, Costa O, Carvalho M, de Freitas AF. Circadian patterns of heart rate variability in patients with dysautonomia. *Rev Port Cardiol*. 1997 Mar; 16(3):313-5.
162. Fonseca C, Cardim N, Morais H, Ferreira T, Pereira AT, Luís ML, Luís AS, Ceia F, Correia JM. Diastolic dysfunction and left ventricular hypertrophy in familial amyloidotic polyneuropathy: a cause-effect relationship? *Rev Port Cardiol*. 2000 Apr;19(4):477-81.
163. Coutinho CA, Conceição I, Almeida A, Cantinho G, Sargento L, Vagueiro MC. Early detection of sympathetic myocardial denervation in patients with familial amyloid polyneuropathy type I. *Rev Port Cardiol*. 2004 Feb;23(2):201-11.

164. Pruzanski W, Baron M, Shupak R. Neuroarthropathy (Charcot joints) in familial amyloid polyneuropathy. *J Rheumatol*. 1981 May-Jun;8(3):477-81
165. Allard SA, King RH, Thomas PK, Bourke BE. Haemarthrosis due to fracture through amyloid deposits in bone in Portuguese familial amyloidosis. *Ann Rheum Dis*. 1991 Nov; 50(11):820-2.
166. Kitajima M, Korogi Y, Yamura M, Ikushima I, Hayashida Y, Ando Y, Uchino M, Yamashita Y. Familial amyloid polyneuropathy: hypertrophy of ligaments supporting the spinal cord. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2004 Oct; 25(9):1599-602.
167. M'bappé P, Gâteau G. Osteo-articular manifestations of amyloidosis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2012 Aug;26(4):459-75.
168. Hofer PA, Andersson R. Postmortem findings in primary familial amyloidosis with polyneuropathy: a study based six cases from northern Sweden. *Acta Path Microbiol Scand Sect A*. 1975; 83:309-322.
169. Ando Y, Yi S, Nakagawa T, Ikegawa S, Hirota M, Miyazaki A, Araki S. Disturbed metabolism of glucose and related hormones in familial amyloidotic polyneuropathy: hypersensitivities of the autonomic nervous system and therapeutic prevention. *J Auton Nerv Syst*. 1991 Jul;35(1):63-70.
170. Lobato L, Beirão I, Guimarães SM, Droz D, Guimarães S, Grünfeld JP, Noël LH. Familial amyloid polyneuropathy type I (Portuguese): distribution and characterization of renal amyloid deposits. *Am J Kidney Dis*. 1998 Jun;31(6):940-6.
171. Lobato L, Beirão I, Silva M, Bravo F, Silvestre F, Guimarães S, Sousa A, Noël LH, Sequeiros J. Familial ATTR amyloidosis: microalbuminuria as a predictor of symptomatic disease and clinical nephropathy. *Nephrol Dial Transplant*. 2003 Mar;18(3):532-8.
172. Lobato L. Portuguese-type amyloidosis (transthyretin amyloidosis, ATTR V30M). *J Nephrol*. 2003 May-Jun;16(3):438-42.
173. Obayashi K, Ando Y, Terazaki H, Yamashita S, Nakagawa K, Nakamura M, Yamashita T, Suga M, Ishizaki T, Uchino M, Ando M. Effect of sildenafil citrate (Viagra) on erectile dysfunction in a patient with familial amyloidotic polyneuropathy ATTR Val30Met. *J Auton Nerv Syst*. 2000 Apr 12; 80(1-2):89-92.
174. Andrade MJ. Alterações vesico-esfincterianas na polineuropatia amiloidótica familiar. 2000. *Tese de doutoramento*, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto.
175. Andersson R, Bjerle P. Studies of urinary bladder dysfunction in amyloidosis with polyneuropathy. *Acta Med Scand*. 1975 Jan-Feb;197(1-2):117-23.
176. Takahashi R, Ono K, Ikeda T, Akagi A, Noto D, Nozaki I, Sakai K, Asakura H, Iwasa K, Yamada M. Coagulation and fibrinolysis abnormalities in familial amyloid polyneuropathy. *Amyloid*. 2012 Sep; 19(3):129-32.
177. Lobato L, Beirão I, Azevedo R, Santos M, Ventura A, Silva M, Ribeiro P, Guimarães S. Inappropriately low levels of erythropoietin and correction of anemia in familial amyloid polyneuropathy type I. *Nephrol Dial Transpl*. 1999; 14:9.
178. Beirão I, Lobato L, Costa PM, Fonseca I, Mendes P, Silva M, Bravo F, Cabrita A, Porto G. Kidney and anemia in familial amyloidosis type I. *Kidney Int*. 2004 Nov; 66(5):2004-9.
179. Beirão I, Lobato L, Moreira L, Mp Costa P, Fonseca I, Cabrita A, Porto G. Long-term treatment of anemia with recombinant human erythropoietin in familial amyloidosis TTR V30M. *Amyloid*. 2008 Sep;15(3):205-9.

180. Rocha N, Velho G, Horta M, Martins A, Massa A. Cutaneous manifestations of familial amyloidotic polyneuropathy. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2005 Sep;19(5):605-7.
181. Mascaranhas Saraiva M. Alterações da função ano-recto-cólica na polineuropatia amiloidótica familiar. 1999. *Tese de Doutorado*. Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto
182. Leite I, Correia M, Nunes B, Amado J, Coutinho P. The loss of weight in type I familial amyloidotic polyneuropathy: a preliminar study. In: Costa PP, Freitas AF, Saraiva MJM (eds). *Familial Amyloidotic Polyneuropathy and Other Related Disorders. Arquivos de Medicina Porto*, 1990: pp341-344.
183. Lopes A. Aspectos psiquiátricos e psico-sociais nos doentes com PAF. In: Centenário do nascimento de Corino de Andrade. *Sinapse*. 2006 (6): pp129-133
184. Sandgren O. Ocular Involvement in Familial Amyloidotic Polyneuropathy. 1992. *Tese Doutorado*. University Of Umeå.
185. Ando E, Ando Y, Maruoka S, Sakai Y, Watanabe S, Yamashita R, Okamura R, Araki S. Ocular microangiopathy in familial amyloidotic polyneuropathy, type I. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 1992; 230(1):1-5.
186. Sandgren O, Hofer PA. Conjunctival involvement in familial amyloidotic polyneuropathy. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 1990 Jun;68(3):292-6.
187. Sandgren O, Eriksson A. Lacrimal dysfunction in familial amyloidotic polyneuropathy, swedish type. In *Familial Amyloidotic Polyneuropathy and other transthyretin related disorders*. Edited by Costa P, Freitas F, Saraiva MJM. *Arquivos de Medicina Vol.3 Special Issue*, 1990. Pp 329-333.
188. Sá S: Sinais oculares da Amiloidose. *Arquivos Portugueses de Oftalmologia*. 1960; 12: 91-107,
189. Rasteiro A, Trincão R: Lesões oculares na polineuropatia amiloidotica familiar de tipo português. *Exp Ophthal (Coimbra)*. 1979; 5:7-8.
190. Rasteiro A. Neuro-paralytic keratitis in familial Portuguese amyloidosis of the Corino-Andrade type]. *Bull Mem Soc Fr Ophtalmol*. 1986;97:212-4.
191. Ando E, Ando Y, Okamura R, Uchino M, Ando M, Negi A. Ocular manifestations of familial amyloidotic polyneuropathy type I: long-term follow up. *Br J Ophthalmol*. 1997 Apr;81(4):295-8
192. Okajima T, Inada K, Ueno H, Nakashima H, Okamura R. On the mechanism of defective lacrimation in familial amyloid polyneuropathy. *Rinsho Shinkeigaku*. 1983 May;23(5): 421-6.
193. Wong VG, McFarlin DE. Primary familial amyloidosis. *Arch Ophthalmol*. 1967 Aug;78(2):208-13.
194. Dosso AA, Rungger-Brändle E. Bilateral corneal perforation in familial amyloidotic polyneuropathy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2005 Mar;243(3):273-7.
195. Inada K, Baba H, Okamura R. Studies of human tear proteins: 4. Analysis by crossed immunoelectrophoresis of tears in various diseases. *Jpn J Ophthalmol*. 1985;29(2):212-21.
196. Rask L, Geijer C, Bill A, Peterson PA. Vitamin A supply of the cornea. *Exp Eye Res*. 1980 Aug; 31(2):201-11.
197. Santos M, castro L, Rio E, Coutinho P; Cranial nerve involvement in type I familial amyloidotic polyneuropathy. In: *Familial Amyloidotic Polyneuropathy and other Transthyretin Related Disorders*. Edited by Costa PP, Freitas AS, Saraiva MJM. *Arquivos de Medicina*. 1990, pp:275-278.

198. Munar-Qués M, Costa PP, Saraiva MJM; Cranial neuropathy in the major focus of familial amyloidotic polyneuropathy type I. In: *Familial Amyloidotic Polyneuropathy and other Transthyretin Related Disorders*. Edited by Costa PP, Freitas AS, Saraiva MJM. *Arquivos de Medicina*. 1990, pp:279-282.
199. Futa R, Inada K, Nakashima H, Baba H, Kojima Y, Okamura R, Araki S. Familial amyloidotic polyneuropathy: ocular manifestations with clinicopathological observation. *Jpn J Ophthalmol*. 1984;28(3):289-98.
200. Sandgren O, Kjellgren D, Suhr OB. Ocular manifestations in liver transplant recipients with familial amyloid polyneuropathy. *Acta Ophthalmol*. 2008 Aug; 86(5):520-4.
201. Segawa K: The fine structure of the iridocorneal angle tissue in glaucomatous eyes. (5) Glaucoma secondary to primary familial amyloidosis. *Jpn Clin Ophthalmol*. 30: 1375-1380, 1976.
202. Matsuo T, Kodani Y, Tokizawa H, Tsukahara S: Ocular findings of primary familial amyloidosis (1) Report of secondary open angle glaucoma. *Jpn J Clin Ophthalmol*. 30:24-31, 1976.
203. Kawaji T, Ando Y, Nakamura M, Yamamoto K, Ando E, Takano A, Inomata Y, Hirata A, Tanihara H. Transthyretin synthesis in rabbit ciliary pigment epithelium. *Exp Eye Res*. 2005 Sep; 81(3):306-12.
204. Kaufman HE. Primary familial amyloidosis. *AMA Arch Ophthalmol*. 1958 Dec;60(6):1036-43.
205. Paton D, Duke JR. Primary familial amyloidosis. Ocular manifestations with histopathologic observations. *Am J Ophthalmol*. 1966 Apr;61(4):736-47.
206. Ferry AP, Lieberman TW. Bilateral amyloidosis of the vitreous body: report of a case without systemic or familial involvement. *Arch Ophthalmol*. 1976 Jun;94(6):982-91.
207. Silva-Araújo AC, Tavares MA, Cotta JS, Castro-Correia JF. Aqueous outflow system in familial amyloidotic polyneuropathy, Portuguese type. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 1993 Mar;231(3):131-5.
208. Coutinho P, da Silva AM, Lima JL, Barbosa AR; Forty years of experience with type I amyloid neuropathy. Review of 483 cases. In: *Amyloid and Amyloidosis*. Edited by Glenner, Pinho e Costa, Freitas F. Excerpta Médica, Amsterdam, 1980, pp88-98.
209. Andrade L, de Sá; Sintomatologia ocular na paramiloidose. *Arq. Port Oftal* 1962; 14:37-42.
210. Tsukahara S, Matsuo T. Secondary glaucoma accompanied with primary familial amyloidosis. *Ophthalmologica*. 1977;175(5):250-62.
211. Duret MH, Guilbert F, Dascotte JC, Houcke M, Giard P. A case of amyloidotic glaucoma. Clinical and anatomic-pathological study. *Bull Soc Ophthalmol Fr*. 1986 Apr;86(4):591-2, 595.
212. Legrand J. Opacification of the vitreous body associated with familial glaucoma. *Bull Mem Soc Fr Ophthalmol*. 1966; 79:454-63.
213. Doft BH, Machemer R, Skinner M, Buettner H, Clarkson J, Crock J, McLeod D, Michels R, Scott J, Wilson D. Pars plana vitrectomy for vitreous amyloidosis. *Ophthalmology*. 1987 Jun; 94(6):607-11.
214. Trepsat C, Hullo A, Durand L, Bouvier R. Vitreous amyloidosis. Apropos of 2 cases with an ultrastructure study. *Bull Soc Ophthalmol Fr*. 1984 Jun-Jul;84(6-7):853-6.

215. Kimura A, Ando E, Fukushima M, Koga T, Hirata A, Arimura K, Ando Y, Negi A, Tanihara H. Secondary glaucoma in patients with familial amyloidotic polyneuropathy. *Arch Ophthalmol*. 2003 Mar; 121(3):351-6.
216. Frau E, Lautier-Frau M, Saindelle-Ribeaudeau F, Adams D, Bousquet A, Labétoulle M, Offret H. Familial amyloid polyneuropathy type I complicated by chronic glaucoma: 3 cases. *J Fr Ophthalmol*. 2000 Mar; 23(3):217-20.
217. Kantarjian AD, Dejong RN. Familial primary amyloidosis with nervous system involvement. *Neurology*. 1953 Jun;3(6):399-409.
218. Rutar T, Reinke M, D'Amico D, Bhisitkul R. Diseases of the Vitreous. In: Albert & Jakobie's Principles & Practice of Ophthalmology. Edited by N. Franklin Adkinson Jr, William W. Busse, Bruce S. Bochner, Stephen T Holgate. 3rd ed. Philadelphia Pa: WB Saunders Co.
219. Barouch FC, Benson MD, Mukai S. Isolated vitreoretinal amyloidosis in the absence of transthyretin mutations. *Arch Ophthalmol*. 2004 Jan;122(1):123-5.
220. Salvador F, Mateo C, Alegre J, Reventos A, García-Arumi J, Corcostegui B. Vitreous amyloidosis without systemic or familial involvement. *Int Ophthalmol*. 1993-1994; 17(6):355-7.
221. Sandgre O; Vitreous opacities in familial amyloidotic polyneuropathy, swedish type. In: Familial Amyloidotic Polyneuropathy and other Transthyretin Related Disorders. Edited by Costa PP, Freitas AS, Saraiva MJM. *Arquivos de Medicina*. 1990, pp: 279-282.
222. Sandgren O, Drugge U, Holmgren G, Sousa A. Vitreous involvement in familial amyloidotic neuropathy: a genealogical and genetic study. *Clin Genet*. 1991 Dec; 40(6):452-60
223. Monteiro JG, Martins AF, Figueira A, Saraiva MJ, Costa PP. Ocular changes in familial amyloidotic polyneuropathy with dense vitreous opacities. *Eye (Lond)*. 1991;5 (Pt 1):99-105.
224. Munar-Qués M, Salva-Ladaria L, Mulet-Perera P et al. Vitreous amyloidosis after liver transplantation in patients with familial amyloid polyneuropathy: ocular synthesis of mutant transthyretin. *Amyloid*. 2000 Dec; 7: 266-269.
225. Sandgren O, Kjellgren D, Suhr OB. Ocular manifestations in liver transplant recipients with familial amyloid polyneuropathy. *Acta Ophthalmol*. 2008; 86:520-524.
226. Herbert J, Cavallaro T, Martone R. The distribution of retinol-binding protein and its mRNA in the rat eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1991; 32: 302-309.
227. Sandgren O, Stenkula S, Dedorsson I. Vitreous surgery in patients with primary neuropathic amyloidosis. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 1985 Aug; 63(4):383-8.
228. Doft BH, Machemer R, Skinner M, Buettner H, Clarkson J, Crock J, McLeod D, Michels R, Scott J, Wilson D. Pars plana vitrectomy for vitreous amyloidosis. *Ophthalmology*. 1987 Jun; 94(6):607-11.
229. Giora T, Gad K, Mordechai P. Treatment of vitreous opacities in a case of familial amyloidotic polyneuropathy by vitreous surgery. *Metab Pediatr Ophthalmol*. 1981; 5(2):105-8.
230. Koga T, Ando E, Hirata A, Fukushima M, Kimura A, Ando Y, Negi A, Tanihara H. Vitreous opacities and outcome of vitreous surgery in patients with familial amyloidotic polyneuropathy. *Am J Ophthalmol*. 2003 Feb; 135(2):188-93.

231. Schwartz MF, Green WR, Michels RG, Kincaid MC, Fogle J. An unusual case of ocular involvement in primary systemic nonfamilial amyloidosis. *Ophthalmology*. 1982 Apr; 89(4):394-401.
232. Kasner D, Miller GR, Taylor WH, Sever RJ, Norton EW. Surgical treatment of amyloidosis of the vitreous. *Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol*. 1968 May-Jun;72(3):410-8.
233. Irvine AR, Char DH. Recurrent amyloid involvement in the vitreous body after vitrectomy. *Am J Ophthalmol*. 1976 Nov;82(5):705-8.
234. Noble KG. Bilateral multifocal retinal arteriolar sheathing as the only ocular finding in hereditary amyloidosis. *Am J Ophthalmol*. 1998 Jan;125(1):111-3.
235. Falls HF, Jackson J, Carey JH, Rukavina JG, Block WD. Ocular manifestations of hereditary primary systemic amyloidosis. *AMA Arch Ophthalmol*. 1955 Nov;54(5):660-4.
236. Lemaitre-Labailly C, Bodaghi B, Cassoux N, Lehoang P. Acute choroidal closure caused by hemodialysis accident in an amyloidotic patient. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2006 Jun;244(6):758-60.
237. Dunlop AA, Graham SL. Familial amyloidotic polyneuropathy presenting with rubeotic glaucoma. *Clin Experiment Ophthalmol*. 2002 Aug;30(4):300-2.
238. Savage DJ, Mango CA, Streeten BW. Amyloidosis of the vitreous. Fluorescein angiographic findings and association with neovascularization. *Arch Ophthalmol*. 1982 Nov;100(11):1776-9.
239. Sales-Luís ML, Galvao M, Carvalho M, Sousa G, Alves MM, Serrão R. Treatment of familial amyloidotic polyneuropathy (Portuguese type) by plasma exchange. *Muscle Nerve*. 1991 Apr;14(4):377-8.
240. Lobato L, Costa PMP, Castro R, Beirão I, Estacio A, Costa PP. In vivo immunoadsorption of transthyretin in familial amyloidotic polyneuropathy TTR-Met 30: preliminar clinical experience. Proceedings of the 3rd International Symposium on Familial Amyloidotic Polyneuropathy and other Transthyretin Related Disorders. 1995. Lisboa, Portugal
241. Holmgren G, Steen L, Ekstedt J, Groth CG, Ericzon BG, Eriksson S, Andersen O, Karlberg I, Nordén G, Nakazato M, et al. Biochemical effect of liver transplantation in two Swedish patients with familial amyloidotic polyneuropathy (FAP-met30). *Clin Genet*. 1991 Sep; 40(3):242-6.
242. Holmgren G, Ericzon BG, Groth CG, Steen L, Suhr O, Andersen O, Wallin BG, Seymour A, Richardson S, Hawkins PN, et al. Clinical improvement and amyloid regression after liver transplantation in hereditary transthyretin amyloidosis. *Lancet*. 1993 May 1; 341(8853):1113-6.
243. Cardoso I, Goldsburly CS, Müller SA, Olivieri V, Wirtz S, Damas AM, Aebi U, Saraiva MJ. Transthyretin fibrillogenesis entails the assembly of monomers: a molecular model for in vitro assembled transthyretin amyloid-like fibrils. *J Mol Biol*. 2002 Apr 12; 317(5):683-95.
244. Lashuel HA, Lai Z, Kelly JW. Characterization of the transthyretin acid denaturation pathways by analytical ultracentrifugation: implications for wild-type, V30M, and L55P amyloid fibril formation. *Biochemistry*. 1998 Dec 22; 37(51):17851-64.
245. Miroy GJ, Lai Z, Lashuel HA, Peterson SA, Strang C, Kelly JW. Inhibiting transthyretin amyloid fibril formation via protein stabilization. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996 Dec 24; 93(26):15051-6.

246. Peterson SA, Klabunde T, Lashuel HA, Purkey H, Sacchettini JC, Kelly JW. Inhibiting transthyretin conformational changes that lead to amyloid fibril formation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998 Oct 27; 95(22):12956-60.
247. Baures PW, Oza VB, Peterson SA, Kelly JW. Synthesis and evaluation of inhibitors of transthyretin amyloid formation based on the non-steroidal anti-inflammatory drug, flufenamic acid. *Bioorg Med Chem*. 1999 Jul; 7(7):1339-47.
248. Oza VB, Smith C, Raman P, Koepf EK, Lashuel HA, Petrassi HM, Chiang KP, Powers ET, Sacchettini J, Kelly JW. Synthesis, structure, and activity of diclofenac analogues as transthyretin amyloid fibril formation inhibitors. *J Med Chem*. 2002 Jan 17; 45(2):321-32.
249. Klabunde T, Petrassi HM, Oza VB, Raman P, Kelly JW, Sacchettini JC. Rational design of potent human transthyretin amyloid disease inhibitors. *Nat Struct Biol*. 2000 Apr; 7(4):312-21.
250. Coelho T, Maia LF, Martins da Silva A, Waddington Cruz M, Planté-Bordeneuve V, Lozeron P, Suhr OB, Campistol JM, Conceição IM, Schmidt HH, Trigo P, Kelly JW, Labaudinière R, Chan J, Packman J, Wilson A, Grogan DR. Tafamidis for transthyretin familial amyloid polyneuropathy: a randomized, controlled trial. *Neurology*. 2012 Aug 21; 79(8):785-92.
251. He Y, Jia SB, Zhang W, Shi JM. New options for uveitis treatment. *Int J Ophthalmol*. 2013 Oct 18; 6(5):702-707.
252. Coelho T, Adams D, Silva A, Lozeron P, Hawkins PN, Mant T, Perez J, Chiesa J, Warrington S, Tranter E, Munisamy M, Falzone R, Harrop J, Cehelsky J, Bettencourt BR, Geissler M, Butler JS, Sehgal A, Meyers RE, Chen Q, Borland T, Hutabarat RM, Clausen VA, Alvarez R, Fitzgerald K, Gamba-Vitalo C, Nochur SV, Vaishnav AK, Sah DW, Gollob JA, Suhr OB. Safety and efficacy of RNAi therapy for transthyretin amyloidosis. *N Engl J Med*. 2013 Aug 29; 369(9):819-29.
253. Carvalho F, Sousa M, Fernandes S, Silva J, Saraiva MJ, Barros A. Preimplantation genetic diagnosis for familial amyloidotic polyneuropathy (FAP). *Prenat Diagn*. 2001 Dec; 21(12):1093-9.
254. Tincani G, Hoti E, Andreani P, Ricca L, Pittau G, Vitale V, Blandin F, Adam R, Castaing D, Azoulay D. Operative risks of domino liver transplantation for the familial amyloid polyneuropathy liver donor and recipient: a double analysis. *Am J Transplant*. 2011 Apr; 11(4):759-66.
255. Roels L, Rahmel A. The European experience. *Transpl Int*. 2011 Apr; 24(4):350-67.
256. Furtado A, Tomé L, Oliveira FJ, Furtado E, Viana J, Perdigoto R. Sequential liver transplantation. *Transplant Proc*. 1997 Feb-Mar; 29(1-2):467-8.
257. Familial Amyloidotic Polyneuropathy World Transplant Registry and Domino Liver Transplant Registry. <http://www.fapwtr.org>
258. Furtado L, Oliveira F, Furtado E, Geraldes B, Reis A, Viana J, Bento C, Vieira H, Neves S. Maximum sharing of cadaver liver grafts composite split and domino liver transplants. *Liver Transpl Surg*. 1999 Mar; 5(2):157-8.
259. Bispo M, Marcelino P, Marques HP, Martins A, Perdigoto R, Aguiar MJ, Mourão L, Barroso E. Domino versus deceased donor liver transplantation: association with early graft function and perioperative bleeding. *Liver Transpl*. 2011 Mar; 17(3):270-8.
260. Stangou AJ, Heaton ND, Hawkins PN. Transmission of systemic transthyretin amyloidosis by means of domino liver transplantation. *N Engl J Med*. 2005 Jun 2; 352(22):2356.

261. Lladó L, Baliellas C, Casasnovas C, Ferrer I, Fabregat J, Ramos E, Castellote J, Torras J, Xiol X, Rafecas A. Risk of transmission of systemic transthyretin amyloidosis after domino liver transplantation. *Liver Transpl.* 2010 Dec;16(12):1386-92.
262. Takei Y, Gono T, Yazaki M, Ikeda S, Ikegami T, Hashikura Y, Miyagawa S, Hoshii Y. Transthyretin-derived amyloid deposition on the gastric mucosa in domino recipients of familial amyloid polyneuropathy liver. *Liver Transpl.* 2007 Feb; 13(2):215-8.
263. Goto T, Yamashita T, Ueda M, Ohshima S, Yoneyama K, Nakamura M, Nanjo H, Asonuma K, Inomata Y, Watanabe S, Uchino M, Tanaka K, Ando Y. Iatrogenic amyloid neuropathy in a Japanese patient after sequential liver transplantation. *Am J Transplant.* 2006 Oct;6(10):2512-5.
264. Ericzon BG. Domino transplantation using livers from patients with familial amyloidotic polyneuropathy: should we halt? *Liver Transpl.* 2007 Feb;13(2):185-7

Introdução

II → Descrição das alterações oftalmológicas da PAF na população portuguesa

Impacto do transplante hepático na oculopatia

Descrição de outras alterações: Presbiopia e Sensibilidade ao Contraste

Eritropoietina e neuroproteção no glaucoma

Terapêutica da oculopatia da PAF

Alterações oculares de recetores de fígado PAF e risco de oculopatia

Discussão

Conclusões

Perspetivas futuras

II → Descrição das alterações oftalmológicas da PAF na população portuguesa

Beirão J, Malheiro J, Lemos C, Beirão I, Costa P, Torres P. OPTHALMOLOGICAL MANIFESTATIONS IN FAMILIAL AMYLOIDOSIS ATTR V30M PORTUGUESES MUTATION CARRIERS: a review of 513 cases. *Amyloid*. (Submitted)

RESUMO

Para estudar as manifestações da oculopatia na ATTRV30M nos doentes portugueses, foi realizado um estudo retrospectivo de 513 portadores da mutação TTRV30M, entre Janeiro de 2008 e Dezembro de 2013. As manifestações oftalmológicas estudadas foram as alterações vasculares da conjuntiva (AVC), o teste de Schirmer sem anestesia, o tempo de rotura do filme lacrimal (TBUT), a deposição de amiloide na íris (DAI), a íris denteada, a deposição de amiloide na capsula anterior do cristalino (DAC), a amiloidose vítrea, a angiopatia amiloidótica retiniana e o glaucoma.

Foram estudados 1026 olhos (513 indivíduos) dos quais 36 eram portadores assintomáticos da mutação. Nenhum destes indivíduos apresentava qualquer manifestação oftalmológica da PAF. Os restantes 477 (93%) eram doentes, com uma mediana de tempo de doença de 9,3 (5,1 -13,7) anos e destes, 343 (72%) eram transplantados hepáticos, com uma mediana de tempo de transplante de 6,6 (3,3 – 10,8) anos. Devido à frequente evolução assimétrica nos olhos dos doentes PAF, para o estudo das prevalências foi considerado, que determinado doente tinha oculopatia se apresentasse um ou os dois olhos atingidos.

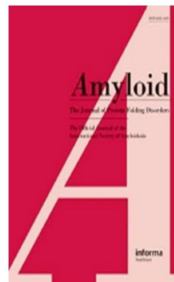
As manifestações oculares encontradas por ordem decrescente foram o TBUT anormal (379 doentes, 79,5%, 751 olhos), o teste de Schirmer anormal (320 doentes, 67%, 635 olhos), o DAI (183 doentes, 38,4%, 350 olhos), o DAC (157 doentes, 32,9%, 308 olhos), a íris denteada (133 doentes, 27,9%, 238 olhos), o glaucoma (97 doentes, 20,3%, 165 olhos), a amiloidose vítrea (83 doentes, 17,4%, 139 olhos), as AVC (68 doentes, 14,3%, 136 olhos) e a angiopatia amiloidótica retiniana (21 doentes, 4,4%, 32 olhos).

Os doentes com teste de Schirmer anormal ($P < 0,001$), íris denteada ($P = 0,006$) e amiloidose vítrea ($P = 0,007$) eram significativamente mais velhos do que os que não apresentavam estas alterações. Comparando os 3 grupos com diferentes idades de início, encontramos uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos na prevalência do AVC ($P = 0,045$) e no teste de Schirmer anormal ($P = 0,004$). Nos doentes transplantados hepáticos foram encontradas prevalências mais elevadas de DAI ($P = 0,001$), DAC ($P = 0,009$) e amiloidose vítrea ($P = 0,025$). Dos olhos com glaucoma, 92,1% tinham íris denteada ($P < 0,001$) e dos 32 com angiopatia amiloidótica retiniana, 68,8% tinham amiloidose vítrea ($P < 0,001$). As

manifestações oculares mais precocemente encontradas foram o TBUT e o teste de Schirmer anormais e a menos prevalente foi a angiopatia amiloidótica retiniana.

As manifestações oculares nos doentes PAF apresentaram uma elevada prevalência, que aumenta com a duração da doença. Foram encontradas diferenças nas idades, nos grupos com diferentes idades de início de doença, e nos doentes transplante hepático.

Amyloid



**OPHTHALMOLOGICAL MANIFESTATIONS IN FAMILIAL
AMYLOIDOSIS ATTR V30M PORTUGUESE MUTATION
CARRIERS: a review of 513 cases**

Journal:	<i>Amyloid</i>
Manuscript ID:	Draft
Manuscript Type:	Original Article
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	Beirão, João; Centro Hospitalar Porto, Ophthalmology Malheiro, Jorge; Hospital de Santo António, Nephrology Lemos, Carolina; Instituto de Biologia Molecular e Celular, Beirão, Idalina; Centro Hospitalar do Porto, Costa, Paulo; INSA Dr. Ricardo Jorge, Torres, Paulo; Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar,
Keywords:	Amyloid, Amyloidosis, Familial Amyloidotic Polyneuropathy, ATTRV30M, Eye

SCHOLARONE™
Manuscripts

URL: <http://mc.manuscriptcentral.com/damy>

OPHTHALMOLOGICAL MANIFESTATIONS IN FAMILIAL AMYLOIDOSIS
ATTR V30M PORTUGUESE MUTATION CARRIERS: a review of 513 cases

Beirão J ^{1,2,4}, Malheiro J⁴, Lemos C³, Beirão I ^{2,4}, Costa P ^{4,5}, Torres P ^{1,4}

1. Ophthalmology Service, Hospital de Santo António,
Praça Prof. Abel Salazar, 2
4100-002 Porto
2. Unidade Clínica de Paramiloidose, Hospital de Santo António
R. D. Manuel II
4050 - 345 Porto
3. IBMC Instituto de Biologia Molecular e Celular
Rua do Campo Alegre, 823,
4150-180 Porto
4. UMIB, ICBAS, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar,
Rua de Jorge Viterbo Ferreira n.º 228,
4050-313 PORTO
5. INSA Dr. Ricardo Jorge,
Rua Alexandre Herculano, 321
4000-055 Porto

Corresponding author:

Melo Beirão

Serviço de Oftalmologia, Hospital de Santo António

Largo Prof. Abel Salazar, 2

4099-001 Porto, Portugal

Faxmle: + 351 22 606 61 06

e-mail: bbeirao@iol.pt

Disclosure: There are no conflicts of interest to declare.

Key Words: Amyloid, Amyloidosis, ATTRV30M, Familial Amyloidotic
Polyneuropathy, Eye

Running head: Oculopathy in familial amyloidosis polyneuropathy

Abstract:

Purpose: Assessment of ocular involvement in transthyretin-related familial amyloidotic polyneuropathy (FAP) in a large cohort of Portuguese patients.

Methods: We reviewed the medical records of the first evaluation of 513 Portuguese FAP mutation carriers, at the Ophthalmology Service, Centro Hospitalar do Porto, between January 1, 2008, and January 31, 2013. Abnormal conjunctival vessels (ACV), Schirmer test, tear break-up time (TBUT), amyloid deposition on the iris (DAI), scalloped iris, amyloid deposition on the anterior capsule of the lens (DAL), vitreous amyloidosis, retinal amyloid angiopathy and glaucoma were evaluated and registered.

Results: Of the 513 carriers, 477 (93%) had clinical disease with a median duration of 9.3 (5.1 – 13.7) years and 247 were men. Of these, 343 (72%) had been liver transplanted, on median of 6.6 (3.3 – 10.8) years before inclusion in this study. No ocular abnormalities were identified in the asymptomatic carriers (7%). The abnormalities observed with decreasing frequency were abnormal TBUT (379 patients, 79.5%, 751 eyes), abnormal Schirmer test (320 patients, 67%, 635 eyes), DAI (183 patients, 38.4%, 350 eyes), DAL (157 patients, 32.9%, 308 eyes), scalloped iris (133 patients, 27.9%, 238 eyes), glaucoma (97 patients, 20.3%, 165 eyes), vitreous amyloidosis (83 patients, 17.4%, 139 eyes), ACV (68 patients, 14.3%, 136 eyes) and amyloidotic retinal angiopathy (21 patients, 4.4%, 32 eyes).

Patients with abnormal Schirmer test ($P<0.001$), scalloped iris ($P=0.006$) and vitreous amyloidosis ($P=0.007$) were significantly older than the others.

Comparing the patients of the 3 groups with different age at onset of the disease (Groups A, B and C), we observed a statistically significant difference in the prevalence of ACV ($P=0.045$) and of an abnormal Schirmer test ($P=0.004$) between groups. Transplanted patients have a significantly higher prevalence of DAI ($P=0.001$), DAL ($P=0.009$) and vitreous amyloidosis ($P=0.025$) than non-transplanted patients. Of 165 eyes with glaucoma, 92.1% had scalloped iris ($P<0.001$) and of 32 eyes with retinal amyloidotic angiopathy, 68.8% had vitreous amyloidosis ($P<0.001$). All prevalences increased with time of disease. The earliest ocular manifestations were abnormal Schirmer test and abnormal TBUT (12 % and 17% at 5 years of

clinical disease, respectively) and the least prevalent was retinal amyloid angiopathy (8% at 15 years of clinical disease).

Conclusion: Ocular disorders in FAP patients are common, and their prevalence increases with disease duration. Prevalence is influenced by several factors, such as the age at onset of FAP and liver transplantation.

Introduction:

Familial amyloidotic polyneuropathy, transthyretin V30M related (FAP TTRV30M) is the most common form of systemic amyloidosis, inherited in an autosomal dominant mode. The disease is caused by an unstable mutant transthyretin (TTR) protein that is deposited in different tissues and organs, including the eyes, in the form of amyloid fibrils. The main clinical feature is a prominent peripheral polyneuropathy [1-3].

More than 100 point mutations in TTR have been reported, and more than 80 of these are associated with FAP [4]. In the large majority of Portuguese patients, the implicated TTR variant is a single amino acid substitution of methionine for valine at position 30 of the TTR molecule (TTR V30M). This mutation is also common in Swedish and Japanese patients and can also be found throughout the world.

TTR is produced mainly, but not exclusively, by the liver, the rationale for liver transplantation as a crude attempt at "gene therapy", an approach that has proven its efficacy. In fact, TTR is also produced by the retina and the choroid plexus, a source of mutant TTR not interrupted by liver transplantation.

Several ocular complications associated with amyloid deposition, such as abnormal conjunctival vessels, dry eye, amyloid deposition on the anterior surface of the lens and on the pupil border, scalloped iris, glaucoma and vitreous opacities, can still occur after liver transplantation in FAP patients, and their prevalence increases over time [5-15].

Patients are usually classified as presenting an early-onset disease (onset before 50 years of age) or late-onset disease, respectively. Early onset is associated with a more aggressive, rapidly progressing disease, especially if symptoms appear before 40 years of age. Most Portuguese FAP patients are early-onset cases, with a worse prognosis regarding the severity of symptoms

and an expected survival of 10 to 15 years. Patients manifesting clinical symptoms between 40 and 50 years of age appear to have an intermediate evolution between the two classically described groups.

Liver transplantation is the only therapy that demonstrably halts the progression of the disease and improves survival and quality of life [16]. In the eye, synthesis of mutant TTR continues even after liver transplantation, and mutant TTR has been detected in aqueous humor and vitreous of liver transplanted FAP patients [17,18]. Due to the prolonged survival granted by transplantation, ocular disease has an increased probability to occur, and there is evidence that liver transplantation may even hasten its appearance [19].

In order to characterize the ocular manifestations in FAP TTR V30M Portuguese patients, we reviewed the medical records of the first evaluation of 513 Portuguese FAP carriers, seen at Ophthalmology Service, Centro Hospitalar do Porto between January 1, 2008, and January 31, 2013.

Methods:

This study was a cross sectional non-interventional survey based on the medical records of first ophthalmological evaluations. Study protocols were approved by the Ethics Committee of the Centro Hospitalar do Porto and conducted in accordance with the Helsinki Declaration.

Patients: The study included a retrospective cohort of 513 consecutive patients, 52% men, median age: 44.5 (38.4 – 51.5) years old, examined for ocular abnormalities at the Ophthalmology Department of Centro Hospitalar do Porto. Patients were referenced to our outpatient ophthalmology clinic from all over the country. All patients had a TTR V30M mutation confirmed by genetic testing, and were studied independently of the presence of ocular complaints. All evaluations were carried out by the same senior ophthalmologist, in the same office space and with the same ophthalmic equipment, from January 2008 to January 2013. For analysis, the patients were divided into 4 groups according to their age at onset of systemic disease: group A - early-onset disease (onset < 40 years old), group B -

intermediate-onset disease (onset 40-50 years old), group C - late-onset disease (onset >50 years old) and group D - asymptomatic carriers of the mutation. Of 513 patients, 346 belonged to group A, 64 to group B, 67 to Group C, and 36 patients to group D (asymptomatic carriers). The demographic data is summarized in Table 1.

Methods:

For each patient, 9 distinct FAP related ocular manifestations were sought and evaluated: abnormal conjunctival vessels (ACV), Schirmer test, tear break-up time (TBUT), amyloid deposition on the iris (DAI), scalloped iris, amyloid deposition on the anterior capsule of the lens (DAL), vitreous amyloidosis, retinal amyloid angiopathy and glaucoma. The presence of ACV, DAL and iris involvement (DAI and/or scalloped iris) was evaluated by slit lamp examination. Lacrimal function was measured using the Schirmer test without anesthesia and TBUT. Schirmer's test used paper strips (Schirmer-Plus) inserted in the temporal one-third of the lower eyelid and kept for 5 minutes with closed eyes. The paper was then removed and the amount of moisture was measured in millimeters. It was considered abnormal if shorter than 10 mm. To measure TBUT, an eyedrop of Fluotest® was applied to the inferior conjunctiva and the tear film was observed under a slit lamp with a cobalt blue filter and the elapsed time, in seconds, was recorded before the initial break-up, rupture of the tear film or formation of dry spots. It was considered abnormal when less than 6 seconds. Glaucoma was identified by the presence of optic nerve and visual field abnormalities associated with an intraocular pressure level equal to or higher than 22 mmHg, or were inferred from ongoing treatment with ocular hypotensive eyedrops and / or previous glaucoma surgery. To evaluate the vitreous and the retina, the pupil was dilated with one drop of topical tropicamide at 1% and observation was carried out after 30 min with a non-contact 90 D lens. Patients already vitrectomized for vitreous amyloidosis were also considered positive.

Statistical Analysis: All statistical analysis was performed using SPSS software for Windows (version 18.0; Chicago, USA). Results are presented as

median and interquartiles range for continuous variables, and as counts and percentages (*n*, %) for categorical variables. P values <0.05 were considered statistically significant. In comparisons between groups a chi-square test was used (for categorical variables).

Results

In this study, no asymptomatic carrier (group D) presented any ocular FAP related disorder (36 individuals, 72 eyes), contrary to previous reports from other countries [20-24]. Thus, asymptomatic carriers were excluded from studies of the prevalence of various ocular manifestations in FAP. The 477 symptomatic patients had a median duration of clinical disease of 9.3 (5.1 – 13.7) years, and 343 (72%) had already been transplanted, on median 6.6 (3.3 – 10.8) years before this study.

Of the 477 symptomatic patients, 111 (23.3%) women and 86 (18%) men have inherited the father's illness and the others 115 (24.1%) women and 139 (29.1%) men have inherited the disease from their mothers. Twenty six symptomatic patients did not know which parent was the transmitter or have both parents affected. The gender of the affected parent influenced the age at onset of FAP symptoms in the patient, with significant lower age at onset when the disease was inherited from the mother [median 33 (27 – 37) years versus median 35 (30 – 45), $P < 0.001$].

The ocular involvement may be asymmetric, and for analysis a patient was considered to have an ophthalmologic manifestation if he/she had one or both eyes affected. The prevalence of each ocular manifestation is summarized in Table 2. Of the 477 patients (954 eyes), the abnormalities observed with decreasing frequency were abnormal TBUT (379 patients, 79.5%, 751 eyes), abnormal Schirmer test (320 patients, 67%, 635 eyes), DAI (183 patients, 38.4%, 350 eyes), DAL (157 patients, 32.9%, 308 eyes), scalloped iris (133 patients, 27.9%, 238 eyes), glaucoma (97 patients, 20.3%, 165 eyes), vitreous amyloidosis (83 patients, 17.4%, 139 eyes), ACV (68 patients, 14.3%, 136 eyes) and amyloidotic retinal angiopathy (21 patients, 4.4%, 32 eyes).

Patients with abnormal Schirmer test were significantly older than those with normal test (median age: 46.4 years versus 39.9 years, $P<0.001$). Similar results were observed for DAI (median age: 46.1 years versus 42.8 years, $P=0.007$), for scalloped iris (median age: 46.4 years versus 43.1 years, $P<0.006$) and for vitreous amyloidosis (median age: 46.8 years versus 43.7 years, $P=0.045$). No significant difference in median age was observed for occurrence of ACV (median age: 44.5 years versus 44.5 years, $P=0.793$), for abnormal TBUT (median age: 44.6 years versus 43.1 years, $P=0.859$), for DAL (median age: 46.1 years versus 43.2 years, $P=0.109$), for glaucoma (median age: 46.2 versus 43.8 years, $P=0.079$) and for retinal angiopathy (median age: 44.8 years versus 44.4 years, $P=0.714$).

The gender of the FAP patient and of the affected parent had no significant impact in the studied ophthalmologic manifestations.

Comparing the 3 groups with different age at onset of the disease (Groups A, B and C), we observed a statistically significant difference in prevalence of ACV ($P=0.045$) and abnormal Schirmer test ($P=0.004$), between groups. The Group B showed the highest prevalence of ACV (17.2 %), followed by Group A (15.6 %) and by Group C (4%). Abnormal Schirmer test was more prevalent in Group C (80.6%), followed by Group B (71.9%) and by Group A (63.6%).

We also compared the prevalence of each manifestation between liver transplanted and non-transplanted patients. Transplanted patients had a significantly higher prevalence of DAI (42.9 % versus 26.9 %, $P=0.001$), scalloped iris (21.6 % versus 30.3 %, $P=0.05$), DAL (23.9 % versus 36.1 %, $P=0.009$) and vitreous amyloidosis (11.2 % versus 19.8 %, $P=0.025$). No significant differences were observed in the other studied manifestations.

Glaucoma was positively associated with the presence of scalloped iris. Of 165 eyes with glaucoma, scalloped iris was present in 149 eyes (92.1%) and absent only in 16 eyes (7.9%), $P<0.001$ (chi-squared test). Univariate regression analysis between patients with glaucoma and patients with scalloped iris was significant (O.R. 15.041, I.C. 95 % (5.345 - 42.328), $P<0.01$).

Positive association was also observed between retinal amyloid angiopathy and vitreous amyloidosis. Of 32 eyes with retinal amyloidotic angiopathy, 22 (68.8%) had vitreous amyloidosis, $P<0.001$ (chi-squared test). Univariate

regression analysis between patients with retinal amyloidotic angiopathy and patients with vitreous amyloidosis was significant (O.R. 6.902, I.C. 95 % (2.129 – 22.373), $P=0.001$).

The prevalence of each ocular manifestation at 5, 10, 15, 20 and 25 years of disease evolution are represented in Figure 1. All prevalences of ophthalmologic manifestations were increased in patients with lengthier disease. In patients with 5 years of clinical disease the most prevalent ocular manifestations were abnormal Schirmer Test (12%) and abnormal TBUT (17%). All the other studied manifestations had a prevalence $\leq 6\%$ and no patient had retinal amyloid angiopathy. In patients with 10 years of disease, the prevalence of all ocular manifestations was higher, led by abnormal Schirmer Test (35%) and abnormal TBUT (43%). In this group, only 2% of patients presented retinal amyloid angiopathy. In patients with 15 years of disease the prevalence of all the ocular manifestations increased very noticeably, led again by abnormal Schirmer test (67%) and abnormal TBUT (72%). After 20 years of clinical disease the prevalence of each symptom was: Abnormal TBUT – 91%, Abnormal Schirmer Test – 88%, DAI – 72%, DAL – 67%, scalloped iris – 57%, glaucoma – 41%, vitreous amyloidosis – 40%, ACV – 35% and retinal vitreous amyloidosis – 10%.

Discussion

TTR is widely distributed in ocular tissues. Its presence has been demonstrated in the corneal endothelium, lens capsule, iris epithelium, retinal pigment epithelium (RPE), ciliary pigment epithelium (CPE) and nerve fibers of the retina [20]. However, it seems that the only places where it is produced are in RPE and CPE cells [21,22]. Progression of ocular disease after liver transplantation, as documented in this study, suggests that continued intraocular TTR production is relevant in this context.

Prevalence of ocular manifestations varied with the age at onset of clinical disease. Abnormal conjunctival vessels (ACV) have been described as frequent in patients with early-onset disease, have usually a more aggressive presentation, and were associated by Ando *et al.* to the neuropathy [6].

Despite the similar clinical presentation of FAP neuropathy in Japanese and Portuguese patients, ACV was not the earliest or the most frequent ocular manifestation in our early-onset patients (15.6%) as reported by Ando *et al.* [7], but was much less prevalent in patients with late-onset disease (4%), which usually have a less marked evolution of neuropathy. Other factors besides neuropathy are probably involved in its genesis and/or perhaps a different valuation. Overall, the abnormal Schirmer test had a very high prevalence (group A - 63.6%, group B - 71.9% and group C - 80.6%), higher in the late-onset patients group. This changes are probably associated with the Schirmer test degradation with aging [23], aggravated by neuropathy and amyloid deposition in the lacrimal gland.

It was not found a significant difference between any of the ocular manifestations of FAP in relation to patients' gender. It might be expected to find at least differences in the parameters of dry eye, as in the general population the dry eye is more prevalent in women [24]. This difference was not found, probably because, in general, there is a more marked neuropathy in males, promoting the disappearance of the gender difference in the evaluated parameters for the dry eye [25].

As demonstrated in this work, through the different age at onset of the disease, there are differences in the systemic characteristics of the disease, if it is transmitted by the father or by the mother. Instead, no differences were found between the ophthalmologic manifestations, perhaps for different ocular achievement by mitochondrial DNA, the epigenetic or by environmental factors.

Liver transplanted patients have a significantly higher prevalence of amyloid deposition on the iris (DAI), capsule (DAL) and vitreous, and of scalloped iris. This negative effect of liver transplantation is remarkable and affects particularly the endocular manifestations, suggesting that continuous local production is implicated, since TTR does not cross the blood-ocular barrier [26]. It should be kept in mind that the increased patient survival with liver transplantation may allow time for the appearance of these ocular changes, and explain, at least in part, their higher prevalence in transplanted patients. Moreover, non-transplanted patients could have a more insidious and less

aggressive disease, or other more pressing clinical problems which could lead to insidious forms of referral bias. Further studies are needed to clarify this question.

As expected, disease duration is an important factor in assessing the risk of oculopathy in FAP patients. The prevalence of ocular disease increases with time (Figure 1) and, ultimately, all patients may be affected by a serious eye disease. The first modification seems to be abnormal TBUT followed by abnormal Schirmer test, amyloid deposition on iris and anterior capsule, abnormal conjunctival vessels, scalloped iris, glaucoma, vitreous amyloidosis and finally, the less prevalent retinal amyloid angiopathy. The first ophthalmologic disorders to appear are related to autonomic neuropathy and systemic circulating TTR. Ocular changes related to the endocular TTR production, appear later. The earliest manifestations of endocular disease to appear are probably dependent of CPE TTR production, namely DAI, DAL and glaucoma (anterior segment), followed later by vitreous amyloidosis and retina angiopathy, apparently more dependent on REP TTR production (posterior segment).

The ophthalmologists who deal with our FAP patients have noticed that glaucoma, sometimes, was preceded by DAI and scalloped iris. In the present study, the chi-square test and the univariate regression analysis corroborated a strong association between glaucoma and scalloped iris. A patient without scalloped iris, probably has a risk of developing glaucoma similar to the general population. The appearance of scalloped iris is an indication for increased frequency of intraocular pressure surveillance and for searching the onset of glaucoma. Association between vitreous amyloidosis and retinal angiopathy also seems to occur, a possible clue to the pathophysiology of retinal amyloid angiopathy. The appearance and rapid progression of amyloidotic retinal angiopathy after vitrectomy for vitreous amyloidosis (unpublished data) suggests that amyloid impregnation of the thin terminal vessels in the peripheral retina from the vitreous to the lumen of the vessel, may cause progressive changes in the characteristics of the vessel wall and subsequent obliteration.

In conclusion, pathological ocular changes in FAP patients are highly prevalent and became more frequent with time. The age at onset of FAP

seems to influence the expression of ocular disease. Liver transplantation can change the natural course of ocular disease. The greater survival of transplanted FAP patients is, itself, a factor in the development of eye disease. FAP patients, even after liver transplantation, require a lifelong follow-up at regular intervals taking into consideration the different changes observed, in order to maintain optimal visual function, potentiating the good quality of life provided by the liver transplantation.

References:

1. Andrade C. A peculiar form of peripheral neuropathy; familial atypical generalized amyloidosis with special involvement of the peripheral nerves. *Brain*. 1952; 75(3): 408-27.
2. Saraiva MJ, Birken S, Costa PP, Goodman DS. Family studies of the genetic abnormality in transthyretin (prealbumin) in Portuguese patients with familial amyloidotic polyneuropathy. *Ann N Y Acad Sci*. 1984; 435: 86-100
3. Coelho T, Sousa A, Lourenço E, Ramalheira J. A study of 159 Portuguese patients with familial amyloidotic polyneuropathy (FAP) whose parents were both unaffected. *J Med Genet*. 1994; 31(4): 293-9
4. Connors LH, Lim A, Prokaveva T, Roskens VA, Costello CE. Tabulation of human transthyretin (TTR) variants. *Amyloid* 2003; 10(3): 160-84
5. Falls HF, Jackson J, Carey JH, Rukavina JG, Block WD. Ocular manifestations of hereditary primary systemic amyloidosis. *AMA Arch Ophthalmol*. 1955; 54(5): 660-4
6. Ando E, Ando Y, Maruoka S, Sakai Y, Watanabe S, Yamashita R, Okamura R, Araki S. Ocular microangiopathy in familial amyloidotic polyneuropathy, type I. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 1992; 230(1): 1-5
7. Ando E, Ando Y, Okamura R, Uchino M, Ando M, Negi A. Ocular manifestations of familial amyloidotic polyneuropathy type I: long-term follow up. *Br J Ophthalmol*. 1997; 81(4): 295-8.
8. Kaufman HE. Primary familial amyloidosis. *AMA Arch Ophthalmol*. 1958; 60(6): 1036-43.
9. Munar-Qués M, Salva-Ladaria L, Mulet-Perera P, Solé M, López-Andreu FR, Saraiva MJ. Vitreous amyloidosis after liver transplantation in patients with familial amyloid polyneuropathy: ocular synthesis of mutant transthyretin. *Amyloid*. 2000; 7(4): 266-9.
10. Beirão M, Matos E, Beirão I, Costa PP, Torres P. Anticipation of presbyopia in Portuguese familial amyloidosis ATTR V30M. *Amyloid*. 2011; 18(3): 92-7
11. Sandgren O, Kjellgren D, Suhr OB. Ocular manifestations in liver transplant recipients with familial amyloid polyneuropathy. *Acta Ophthalmol*. 2008; 86(5): 520-4.

12. Beirão M, Matos E, Reis R, Beirão I, Costa PP, Torres P. Spatial visual contrast sensitivity in liver transplanted Portuguese familial amyloidotic polyneuropathy (ATTR V30M) patients. *Amyloid*. 2012; 19(3):152-5.
13. Hara R, Kawaji T, Ando E, Ohya Y, Ando Y, Tanihara H. Impact of liver transplantation on transthyretin-related ocular amyloidosis in Japanese patients. *Arch Ophthalmol*. 2010;128(2): 206-10.
14. Beirão NM, Matos ME, Meneres MJ, Beirão IM, Costa PP, Torres PA. Vitreous surgery impact in glaucoma development in liver transplanted familial amyloidosis ATTR V30M Portuguese patients. *Amyloid*. 2012; 19(3): 146-51.
15. Beirão JM, Matos ME, Beirão IB, Costa PP, Torres PA. Topical cyclosporine for severe dry eye disease in liver-transplanted Portuguese patients with familial amyloidotic polyneuropathy (ATTRV30M). *Eur J Ophthalmol*. 2013; 23(2):156-63.
16. Yamashita T, Ando Y, Okamoto S, Misumi Y, Hirahara T, Ueda M, Obayashi K, Nakamura M, Jono H, Shono M, Asonuma K, Inomata Y, Uchino M. Long-term survival after liver transplantation in patients with familial amyloid polyneuropathy. *Neurology*. 2012; 78(9):637-43.
17. Haraoka K, Ando Y, Ando E, Sun X, Nakamura M, Terazaki H, Misumi S, Tanoue Y, Tajiri T, Shoji S, Ishizaki T, Okabe H, Tanihara H. Presence of variant transthyretin in aqueous humor of a patient with familial amyloidotic polyneuropathy after liver transplantation. *Amyloid*. 2002; 9(4): 247-51.
18. Ando Y, Terazaki H, Nakamura M, Ando E, Haraoka K, Yamashita T, Ueda M, Okabe H, Sasaki Y, Tanihara H, Uchino M, Inomata Y. A different amyloid formation mechanism: de novo oculoleptomeningeal amyloid deposits after liver transplantation. *Transplantation*. 2004; 77(3): 345-9.
19. Hara R, Kawaji T, Ando E, Ohya Y, Ando Y, Tanihara H. Impact of liver transplantation on transthyretin-related ocular amyloidosis in Japanese patients. *Arch Ophthalmol*. 2010; 128(2): 206-10.
20. Dwork AJ, Cavallaro T, Martone RL, Goodman DS, Schon EA, Herbert J. Distribution of transthyretin in the rat eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1990; 31(3): 489-96.
21. Cavallaro T, Martone RL, Dwork AJ, Schon EA, Herbert J. The retinal pigment epithelium is the unique site of transthyretin synthesis in the rat eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1990; 31(3): 497-501.

22. Kawaji T, Ando Y, Nakamura M, Yamamoto K, Ando E, Takano A, Inomata Y, Hirata A, Tanihara H. Transthyretin synthesis in rabbit ciliary pigment epithelium. *Exp Eye Res.* 2005; 81(3): 306-12.
23. Sweeney DF, Millar TJ, Raju SR. Tear film stability: A review. *Exp Eye Res.* 2013; 117: 28-38.
24. Malet F, Le Goff M, Colin J, Schweitzer C, Delyfer MN, Korobelnik JF, Rougier MB, Radeau T, Dartigues JF, Delcourt C. Dry eye disease in French elderly subjects: the Alienor Study. *Acta Ophthalmol.* 2013 Jun 7.
25. González-Duarte A, Soto KC, Martínez-Baños D, Arteaga-Vazquez J, Barrera F, Berenguer-Sanchez M, Cantu-Brito C, García-Ramos G, Estañol Vidal B. Familial amyloidosis with polyneuropathy associated with TTR Ser50Arg mutation. *Amyloid.* 2012; 19(4): 171-6.
26. Beirão JM, Moreira LV, Lacerda PC, Vitorino RP, Beirão IB, Torres PA, Costa PP. Inability of mutant transthyretin V30M to cross the blood-eye barrier. *Transplantation.* 2012 Oct 27;94(8):e54-6.

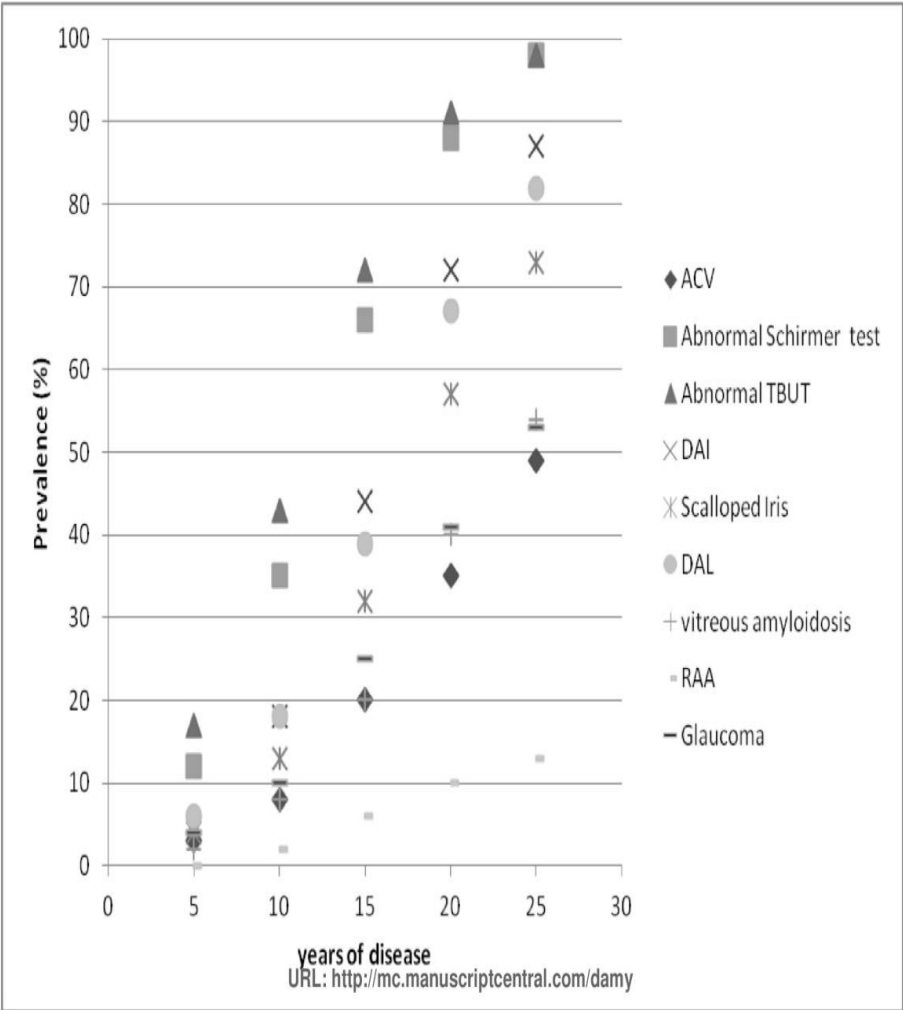
TABLE 1: Demographic Data of 511 FAP carriers (475 symptomatic patients).

FAP carriers (n)	513 (1026 eyes)
Age, years (median, IQR)	44.5 (38.4 – 51.5)
Male Gender (n, %)	267 (52%)
Symptomatic Patients (n)	477 (954 eyes)
Age at onset, years (median, IQR)	33 (29 – 40)
Onset <40 years (patients/eyes)	346 / 692
Onset >40<50 years (patients/eyes)	64 / 128
Onset > 50 years (patients/eyes)	67 / 134
Disease evolution time (years - median)	9.3 (5.1 – 13.7)
Post transplant Follow-up (years - median)	6.6 (3.3 – 10.8)
Affected Father	
Men (n, %)	86 (18.8%)
Age at onset of symptoms, years (median, IQR)	35 (30 – 45)
Affected Mother	
Men (n, %)	139 (29.1%)
Age at onset of symptoms, years (median, IQR)	33 (27 – 37)
Transmitting parent unknown or both affected (n)	26

Table 2. Number of patients / eyes, prevalence and age of patients with or without ocular manifestations (median, IQR). Significant differences in median age of patients were observed for Schirmer test, DAI, scalloped iris, DAL and vitreous amyloidosis.

Manifestation		Patients/Eyes	Prevalence	Median age	IQR	P value
ACV	+	68/136	14.3 %	44.5	40.0 – 49.3	0.793
	-	409/818		44.5	38.1 – 52.0	
SCHIRMER TEST	+	320/635	67 %	46.4	41.0 – 53.7	<0.001
	-	157/319		39.9	36.1 – 45.3	
TBUT	+	379/751	79.5 %	44.6	38.9 – 51.2	0.859
	-	98/203		43.1	38.0 – 54.0	
DAI	+	183/350	38.4 %	46.1	40.8 – 52.9	0.007
	-	294/604		42.8	37.7 – 50.6	
Scalloped Iris	+	133/238	27.9 %	46.4	41.6 – 53.2	0.006
	-	344/716		43.1	37.9 – 50.6	
DAL	+	157/308	32.9 %	46.1	39.9 – 52.9	0.109
	-	320/646		43.2	38.2 – 51.2	
Vitreous Amyloidosis	+	83/139	17.4 %	46.8	40.8 – 53.3	0.045
	-	394/815		43.7	38.0 – 51.1	
ARA	+	21/32	4.4 %	47.9	39.9 – 56.0	0.281
	-	556/922		44.3	38.3 – 51.1	
Glaucoma	+	97/165	20.3 %	46.2	40.3 – 53.3	0.079
	-	380/789		43.8	38.2 – 50.6	

Figure : Prevalence of each ocular manifestation at 5, 10, 15, 20 and 25 years of disease. All prevalences increased with time.



Introdução

Descrição das alterações oftalmológicas da PAF na população portuguesa

III → Impacto do transplante hepático na oculopatia

Descrição de outras alterações: Presbiopia e Sensibilidade ao Contraste

Eritropoietina e neuroproteção no glaucoma

Terapêutica da oculopatia da PAF

Alterações oculares de recetores de fígado PAF e risco de oculopatia

Discussão

Conclusões

Perspetivas futuras

III → Impacto do transplante hepático na oculopatía

Beirão J, Malheiro J, Lemos C, Matos E, Beirão I, Costa P, Torres P. IMPACT OF LIVER TRANSPLANTATION ON THE NATURAL HISTORY OF OCULOPATHY IN PORTUGUESE PATIENTS WITH AMYLOIDOSIS ATTR V30M. *Amyloid*. (Submitted)

RESUMO

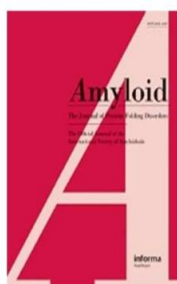
Este estudo teve como objetivo principal, o estudo do impacto do transplante hepático na história natural, das manifestações oftalmológicas da amiloidose TTRV30M.

Foram estudados retrospectivamente, entre Janeiro de 2005 e Dezembro 2011, 64 doentes portugueses com diagnóstico genético de ATTRV30M com idades entre os 39,6 e os 53,8 anos, dos quais 32 eram mulheres. Trinta e dois doentes eram transplantados hepáticos e foram emparelhados com 32 doentes não transplantados, para a mesma idade, a mesma idade de início de sintomas, o mesmo tempo de doença, o mesmo género e o mesmo progenitor-transmissor.

Aparentemente, nos primeiros anos, o transplante hepático teve efeito protetor sobre algumas manifestações oftalmológicas, atrasando a aparecimento de vasos conjuntivais anormais, de alteração do teste de Schirmer e de iris denteada, e agravamento de outras, como a deposição de amiloide na cápsula anterior do cristalino, a amiloidose vítrea e o glaucoma. Este efeito desapareceu ao longo do tempo. Outras alterações, como o tempo de rotura do filme lacrimal, a deposição de amiloide na iris e a angiopatia amiloidótica retiniana, não sofreram qualquer influência do transplante hepático, em nenhum dos tempos estudados.

Podemos assim afirmar, que o transplante hepático, não influencia significativamente, ao longo do tempo, as manifestações oftalmológicas da PAF, particularmente as endoculares. É realçado, mais uma vez, que as manifestações oftalmológicas da PAF aumentam com o tempo de doença, em doentes transplantados e não transplantados.

Amyloid



**IMPACT OF LIVER TRANSPLANTATION ON THE NATURAL
HISTORY OF OCULOPATHY IN PORTUGUESE PATIENTS
WITH AMYLOIDOSIS ATTR V30M**

Journal:	<i>Amyloid</i>
Manuscript ID:	DAMY-2014-0008
Manuscript Type:	Original Article
Date Submitted by the Author:	22-Jan-2014
Complete List of Authors:	Beirão, João; Centro Hospitalar Porto, Ophthalmology Malheiro, Jorge; Centr Hospitalar do Porto, Lemos, Carolina; Instituto de Biologia Molecular e Celular, Matos, Eduarda; Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Beirão, Idalina; Centro Hospitalar do Porto, Costa, Paulo; INSA Dr. Ricardo Jorge, Torres, Paulo; Centro Hospitalar do Porto,
Keywords:	Amyloid, Amyloidosis, ATTR V30M, Familial Amyloidotic Polyneuropathy, Liver transplantation

SCHOLARONE™
Manuscripts

URL: <http://mc.manuscriptcentral.com/damy>

IMPACT OF LIVER TRANSPLANTATION ON THE NATURAL HISTORY
OF OCULOPATHY IN PORTUGUESE PATIENTS WITH AMYLOIDOSIS
ATTR V30M

João Beirão ^{1,2,4}, Jorge Malheiro ⁴, Carolina Lemos ³, Eduarda Matos ⁴, Idalina Beirão
^{2,4}, Paulo Pinho-Costa ^{4,5}, Paulo Torres ^{1,4}

1. Ophthalmology Service, Hospital de Santo António,
Praça Prof. Abel Salazar, 2
4100-002 Porto

2. Unidade Clínica de Paramiloidose, Hospital de Santo António
R. D. Manuel II
4050 - 345 Porto

3. IBMC Instituto de Biologia Molecular e Celular
Rua do Campo Alegre, 823,
4150-180 Porto

4. UMB, ICBAS, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar,
Rua de Jorge Viterbo Ferreira n.º 228,
4050-313 PORTO

5. INSA Dr. Ricardo Jorge,
Rua Alexandre Herculano, 321
4000-055 Porto

Corresponding author:

Melo Beirão

Serviço de Oftalmologia, Hospital de Santo António

Largo Prof. Abel Salazar, 2

4099-001 Porto, Portugal

Phone: +351966009826

Faxmile: + 351 22 606 61 06

e-mail: bbeirao@iol.pt

Running head: Eye in familial amyloidosis polyneuropathy

Key Words: Amyloid; Amyloidosis; Familial Amyloidotic Polyneuropathy;

Transthyretin; Liver transplantation; ATTR V30M; Oculopathy

Abstract:

Purpose: Evaluation of the impact of liver transplantation in the natural history of ocular disorders in Familial Amyloidotic Polineuropathy ATTR V30M patients.

Design: A clinical, retrospective and cross-sectional study of 64 Portuguese FAP ATTR V30M patients was carried out between January 2005 and December 2011.

Methods: Thirty-two liver transplanted patients (both eyes) aged 39.6 – 53.8 years old, 32/32 male/female, were paired with an equal number of non-transplanted patients, matching for age, gender, age at onset, disease duration, and gender of transmitting parent. Intervention or Observation Procedure: Routine ophthalmological observation. Main Outcome Measures: Slit-lamp observation for abnormal conjunctival vessels, tears break-up time, iris, lens; Fundus observation for vitreous, retina and optic disc; Schirmer test.

Results: Liver transplantation had no influence on tears break-up time, deposition of amyloid on the iris and retinal amyloid angiopathy. Slight, non-statistically significant protective effects of liver transplantation were noted in the first years for some ocular manifestations (abnormal conjunctival vessels and scalloped iris), except for the abnormal Schirmer test, which was significantly more prevalent in non-transplanted patients' eyes (81% vs 56%, $P=0.002$). On the other hand, deposition of amyloid on the lens, vitreous amyloidosis and glaucoma were apparently more common in transplanted patients. Those differences tended to disappear with time.

Conclusions: Ocular manifestations of FAP were not influenced by liver transplantation in a meaningful way. Both transplanted and non-transplanted FAP patients need similar regular follow-up due to long-term risk of serious ocular disease.

Introduction:

Transthyretin (TTR) associated amyloidosis is the most frequent form of hereditary systemic amyloidosis [1]. More than 100 amyloidogenic TTR mutations have been documented, but TTR Val30Met is, by far, the most frequent one [2]. In spite of the worldwide distribution of the disease, Portugal remains the main geographic focus of ATTR V30M amyloidosis, which presents itself, usually, as a familial amyloidotic polyneuropathy (FAP).

FAP, Portuguese type, is a severe and disabling, progressive, centripetal, sensory, motor, and autonomic polyneuropathy. Severe cardiac, renal and ocular manifestations may also develop. The majority of Portuguese patients have an early-onset disease, starting in the 3rd or 4th decade, which is associated with a more severe course. For early-onset Portuguese patients, the expected survival is 12-16 years.

Because TTR is primarily produced in the liver [3], replacement the liver harboring a mutant TTR gene by a liver with normal TTR genes reduces circulating mutant TTR to <5% of pre-transplant levels. In fact, liver transplantation is today an accepted treatment for transthyretin amyloidosis (ATTR), improves overall survival, and halts or slows the progression of neuropathy [4].

TTR is also produced locally in the eye by the retinal pigment epithelium [5] and in the ciliary pigment epithelium [6]. In FAP patients, the ocular production of mutant TTR does not cease with liver transplantation and, due to that, ocular complications continue to appear, and may even worsen after liver transplantation [7,8].

The more common ocular manifestations include abnormal conjunctival vessels (ACV), dry eye, scalloped pupils, deposition of amyloid at the anterior capsula of the lens, vitreous amyloidosis, glaucoma and retinal angiopathy, and their prevalence increases with time in FAP ATTR V30M patients [9-11]. Some of them can lead to irreversible blindness and therefore to dramatic changes in the patients' lifestyle, in spite of the stabilization of other disease symptoms with liver transplantation.

1
2
3 In Portugal, the liver transplantation program began in 1992, and currently Portugal is
4
5 the country with more FAP patients transplanted worldwide. Patient survival has
6
7 improved significantly [12] and long-term follow-up and evaluation of ocular
8
9 manifestations is now possible.
10

11 The aim of our study was to evaluate the impact of liver transplantation in each ocular
12
13 disease manifestation (including those related to endocular TTR production and those
14
15 hepatic TTR dependent). A comparative analysis of two groups of FAP patients similar
16
17 in most clinical variables, apart from the liver transplantation status, was made. Based
18
19 on the results, we present recommendations for patient management.
20
21
22

23 24 25 **Methods:**

26
27 A retrospective and descriptive cross-sectional study was conducted among FAP
28
29 patients observed at the Ophthalmology outpatient clinic of the Hospital Santo
30
31 António, Centro Hospitalar do Porto, between January 2005 and December 2011.
32
33 Written informed consent was obtained from all patients and the study was carried out
34
35 in accordance with the Declaration of Helsinki of the World Medical Association, and
36
37 approved by the Ethics Committee of the Centro Hospitalar do Porto.
38
39
40 Sixty-four Portuguese patients with FAP ATTR V30M, aged 39.6 – 53.8 years (median
41
42 44.4 years), 32 males and 32 females, underwent routine ophthalmological
43
44 examination for FAP related ocular abnormalities. Renal disease was an exclusion
45
46 criterion. Thirty-two liver transplanted patients were paired with an equal number of
47
48 non-transplanted patients selected from our cohort of non transplanted FAP patients,
49
50 matching for age, gender, age at onset, disease duration, neurologic stage, nutritional
51
52 status and gender of transmitting parent (Table 1). Prevalence of each ocular
53
54 manifestation was determined in both groups. Period prevalence was then
55
56 determined, considering a time period that started on the moment in which the liver
57
58
59
60

transplanted patient was transplanted (time 0), for each pair of matched patients.

Finally, we compared the prevalence of the different ocular manifestations between the transplanted and the non-transplanted patients at 5, 10 and 15 years post-time 0.

All the examinations were performed by the first author. The ocular manifestations specifically surveyed were: abnormal conjunctival vessels (ACV), dry eye, amyloid deposition at the pupillary border, scalloped iris, amyloid deposition on the anterior surface of the lens, vitreous opacities, glaucoma and retinal amyloid angiopathy.

Slit-lamp biomicroscopic examination was used to determine the presence of ACV and scalloped iris, and to evaluate the deposition of amyloid at the anterior surface of the lens and at the border of the iris. Dry eye was evaluated using two separate tests: Schirmer test without anesthesia (abnormal if lower than 10 mm) and tear break-up time (abnormal if lower than 6 s). Vitreous amyloid deposition was considered positive in the presence of vitreous opacities or previous vitrectomy for vitreous amyloidosis.

Glaucoma was defined by the occurrence of at least one of these features: elevated intraocular pressure (≥ 21 mmHg), use of anti-glaucoma eyedrops, previous glaucoma surgery or characteristic changes in the visual fields and in the optic nerve. Suspected retinal amyloid angiopathy on dilated pupil examination was confirmed by fluorescein angiography, with special attention to the periphery of the retina. Due to the frequent asymmetry between eyes of the same patient, the authors decided to analyze each eye separately and comparative analysis was made between eyes from paired transplanted and non-transplanted FAP patients. The prevalence of each ocular manifestation was determined using the number of eyes, in a total of 128 eyes, 64 from transplanted and the others 64 from non-transplanted patients.

All statistical analysis was performed using the IBM SPSS statistics software package (Windows version 21.0; Armonk, NY, USA). Results are presented as median and interquartile ranges for continuous variables and as counts and percentages (n, %) for

1
2
3 categorical variables. Comparison of the liver transplanted and non-liver transplanted
4
5 groups was performed through the Mann-Whitney test for continuous data and the Chi
6
7 square test for categorical data. Period prevalence of the different ophthalmologic
8
9 abnormalities between the liver transplanted and the non-liver transplanted patients at
10
11 5, 10 and 15 years post-time 0 was compared using the log-rank test. All statistical
12
13 analysis was performed using SPSS software for Windows (version 18.0; Chicago,
14
15 USA. P values < 0.05 were considered statistically significant.
16
17
18
19

20 Results:

21
22 The prevalence of each manifestation evaluated is summarized in Table 2. The
23
24 prevalence of the ophthalmological manifestations were not significantly different
25
26 between transplanted and non-transplanted FAP patients, except for the abnormal
27
28 Schirmer test which was significantly more prevalent in non-transplanted patients'
29
30 eyes (81% vs. 56%, P=0.002).
31
32

33 Setting time 0 at the date of transplantation, we analyzed and compared the
34
35 prevalence of each ocular manifestation at 5, 10 and 15 years of disease duration in
36
37 transplanted and non-transplanted patients. All ocular disorders became more
38
39 frequent over time. The first ophthalmological complication observed was dry eye
40
41 (deterioration of the TBUT and Schirmer tests). Vitreous amyloidosis and glaucoma
42
43 seem to appear after amyloid deposition on the iris and capsule of the lens becomes
44
45 obvious, and after scalloped iris and ACV development. The latest onset ocular
46
47 abnormality was retinal amyloid angiopathy (Table 3).
48
49

50
51 In spite of the lack of statistically significant differences on log-rank analysis for all
52
53 ophthalmological manifestations between paired transplanted and not transplanted
54
55 groups, when we analyze progression at different time frames, a possible protective
56
57 effect of liver transplantation for ACV development, for dry eye and for scalloped iris in
58
59
60

the early stages of the disease is apparent (Figure). This protective effect is lost with increasing duration of the disease, and prevalences become similar in both groups after 15 years. Perhaps surprisingly, other manifestations seem to be more prevalent in the first years after liver transplantation, but approach non-LT values later in time. This worsening effect of liver transplantation was observed in amyloid deposition on the anterior lens capsule, in vitreous amyloidosis, and in glaucoma. Liver transplantation had no influence on the TBUT, on the deposition of amyloid in the iris, and on the retinal amyloid angiopathy at any of the evaluated time of disease.

Discussion:

Liver transplantation is a well-established therapeutic for familial amyloidotic polyneuropathy that effectively alters the progression of clinical symptoms and should be performed soon after the onset of symptoms to prevent disease progression [3,13]. It is known that ocular manifestations progress even after liver transplantation due to the maintenance of production of mutant TTR by the retinal pigment epithelium [7-8, 14-16]. This study confirms that the prevalence of all ophthalmologic complications in FAP patients increase over time, even after liver transplantation. In Portugal, for many years already, all FAP patients undergo liver transplantation on the onset of symptoms, except those who refuse it or develop complications that render that option unadvisable.

Ocular disorders in Swedish ATTR V30M liver transplant recipients were previously reported by Sandgren et al. in 1995 [9]. Swedish patients have a different disease phenotype, with much more frequent late-onset disease. Ocular disease manifestations over a period of 70 months were described, but transplanted and not transplanted patients were not compared. In Japan, Hara *et al.* [17] evaluated the impact of liver transplantation on transthyretin-related ocular amyloidosis in patients

with early-onset disease by comparing two groups, 6 transplanted and 3 non-transplanted patients. They concluded that there are differences between the two groups with early appearance of vitreous opacities in transplanted patients. In their review article, Rousseau *et al.* [18] proposed that liver transplant patients need a long term ophthalmological follow-up.

In this study, we paired transplanted and not transplanted patients for age, gender, age at onset of disease, neurologic stage, nutritional status and gender of transmitting parent. We believe our approach makes possible a more appropriate evaluation, with stronger statistical significance, of the impact of transplantation.

Transthyretin is mainly synthesized in the liver, in the choroid plexus, and in the eye (RPE and ciliar pigment epithelium) [6]. Previous studies [14-17] support that the amyloid deposited in the anterior segment could be derived from the ciliary pigment epithelium-produced TTR and that vitreous amyloid could originate from RPE-derived TTR. The role of circulating mutant TTR in the ocular manifestations of FAP is not known. After liver transplantation, mutant TTR disappears from the circulation while its endocular production remains. It was expected that with liver transplantation extraocular manifestations associated with the circulating mutant TTR, such as dry eye or ACV, would be alleviated. The effect on changes dependent of the endocular production of TTR, namely amyloid deposition on the lens and iris, glaucoma, vitreous opacities and retinal amyloid angiopathy, were uncertain.

In this study, we have not observed any major effect of liver transplantation in the occurrence of most ocular disorders. Only dry eye, as assessed by the Schirmer test, was significantly less common in transplanted patients (56% vs. 81%), but the difference did not reach statistical significance in the log-rank test ($P=0.071$), admittedly a less powerful statistical test. Dry eye reflects extra-ocular main lacrimal gland activity, and should therefore be more responsive to changes in the general

1
2
3 circulation of mutant TTR. Amyloid deposition on the anterior capsule of the lens and
4
5 the vitreous amyloidosis was possibly more frequent at 5 and 10 years in the
6
7 transplanted group, but the log-rank test did not validate this difference. In our cohort,
8
9 amyloid retinal angiopathy was a rare, late appearing ocular complication, observed
10
11 only in the non-transplanted group.
12

13
14 The persistence of extraocular changes, related to systemic mutant TTR production,
15
16 after liver transplantation, can have several explanations. Observations can be biased
17
18 by the exclusion of non-transplanted patients with a more aggressive disease, (that
19
20 can also lead to transplantation exclusion) that, despite a hypothetical greater
21
22 potential to develop ocular pathology, die early. These patients, although carrying the
23
24 same mutation, may have additional genetic factors controlling the diversity of clinical
25
26 expression. Another hypothesis to explain the appearance of ocular abnormalities
27
28 after liver transplantation is the presence of preformed amyloid deposits (nidus) that
29
30 facilitate the aggregation of wild-type TTR, perpetuating deposition of ATTR fibrils
31
32 even in the absence of mutant TTR.
33
34

35
36 ATTR-related endocular abnormalities are probably due only to endocular TTR
37
38 production, since TTR is unable to cross the blood-eye barrier [19]. The apparent
39
40 worsening of some endocular changes, particularly in the early years after liver
41
42 transplantation, could be also due to observational bias resulting from the early death
43
44 of non-transplanted patients with more aggressive disease. Immunosuppressive
45
46 therapy, including the use of corticosteroids, and other factors such as the
47
48 psychological stress associated with transplantation, may also be contributing factors,
49
50 for example by increasing the expression of endocular transthyretin [20].
51
52

53
54 The only ocular manifestation with a significantly different prevalence between
55
56 transplanted and non-transplanted patients, in our study, was the Schirmer test. The
57
58 Schirmer test, particularly as performed in our study, without anesthesia, evaluates
59
60

mainly (90%) the tear production of the main lacrimal gland [21]. The main lacrimal gland secretion is controlled by autonomic, sympathetic and parasympathetic innervation. In FAP, two possible complementary mechanisms could lead to decrease secretion of the main lacrimal gland: autonomic neuropathy [22], and direct amyloid deposition in the lacrimal gland [23]. Both mechanisms can lead to an abnormal Schirmer test and we do not have the means to determine the relative importance of each one. The role of autonomic dysfunction is probably similar in TBUT and in Schirmer tests. The effect of liver transplantation on dry eye could thus rest mainly on the modification of amyloid deposition in the main lacrimal gland, affecting selectively the Schirmer test, assuming that both tests have equal sensitivity. It is important to note that the innervation of the Meibomian glands, evaluated by the TBUT, is chiefly related to the parasympathetic autonomic system [24], which may contribute to the differences found between TBUT and Schirmer tests.

Liver transplantation as a treatment for FAP has dramatically changed the clinical outlook of these patients and their life expectancy. However, this work shows that transplantation does not significantly change the natural history of ocular pathology, and that patients continue to have an increased long-term risk of serious eye disease. Based on these results, our transplanted and non-transplanted liver FAP patients are followed up in the same manner. The first ophthalmologic examination is performed at the genetic diagnosis time. In asymptomatic carriers, the ophthalmologic evaluation should be performed every 2 years and annually if they became symptomatic. If oculopathy is present, the frequency of ophthalmologic evaluation should be performed according to the ocular manifestation, annual for ACV, every six months for dry eye, amyloid deposition at the pupillary border or anterior surface of the lens and

every 3 months for scalloped iris, glaucoma, vitreous amyloidosis and retinal amyloid angiopathy.

FUNDING / SUPPORT: None

FINANCIAL DISCLOSURES: None

References:

1. Saraiva MJ, Costa PP, Goodman DS. Genetic expression of a transthyretin mutation in typical and late-onset Portuguese families with familial amyloidotic polyneuropathy. *Neurology*. 1986; 36 (11): 1413-7
2. Connors LH, Richardson AM, Théberge R, Costello CE. Tabulation of transthyretin (TTR) variants as of 1/1/2000. *Amyloid*. 2000; 7 (1): 54-69
3. Holmgren G, Ericzon BG, Groth CG, et al. Clinical improvement and amyloid regression after liver transplantation in hereditary transthyretin amyloidosis. *Lancet*. 1993; 341(8853): 1113-6.
4. Adams D, Samuel D, Goulon-Goeau C, et al.. The course and prognostic factors of familial amyloid polyneuropathy after liver transplantation. *Brain*. 2000; Jul (Pt7):1495-504.
5. Cavallaro T, Martone RL, Dwork AJ, Schon EA, Herbert J. The retinal pigment epithelium is the unique site of transthyretin synthesis in the rat eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1990; 31: 497-501.

6. Kawaji T, Ando Y, Nakamura M *et al.* Transthyretin synthesis in ciliary pigment epithelium. *Exp Eye Res.* 2005; 81: 306–312.
7. Ando E, Ando Y, Haraoka K. Ocular amyloid involvement after liver transplantation for polyneuropathy. *Ann Intern Med.* 2001; 135(10):931-2.
8. Munar-Qués M, Salva-Ladaria L, Mulet-Perera P, Solé M, López-Andreu FR, Saraiva MJ. Vitreous amyloidosis after liver transplantation in patients with familial amyloid polyneuropathy: ocular synthesis of mutant transthyretin. *Amyloid.* 2000; 7(4): 266-9.
9. Sandgren O. Ocular amyloidosis, with special reference to the hereditary forms with vitreous involvement. *Surv Ophthalmol.* 1995; 40(3): 173-96.
10. Ando E, Ando Y, Okamura R, Uchino M, Ando M, Negi A. Ocular manifestations of familial amyloidotic polyneuropathy type I: long-term follow up. *Br J Ophthalmol.* 1997; 81(4): 295-8
11. Kimura A, Ando E, Fukushima M, *et al.* Secondary glaucoma in patients with familial amyloidotic polyneuropathy. *Arch Ophthalmol.* 2003; 121(3): 351-6
12. Takei Y, Ikeda S, Ikegami T, Hashikura Y, Miyagawa S, Ando Y. Japanese Liver Transplantation Society. Ten years of experience with liver transplantation for familial amyloid polyneuropathy in Japan: outcomes of living donor liver transplantations. *Intern Med.* 2005; 44(11):1151-6.
13. Ando Y, Tanaka Y, Ando E, *et al.* Effect of liver transplantation on autonomic dysfunction in familial amyloidotic polyneuropathy type I. *Lancet.* 1995; 345(8943):195-6.
14. Sandgren O, Kjellgren D, Suhr OB. Ocular manifestations in liver transplant recipients with familial amyloid polyneuropathy. *Acta Ophthalmol.* 2008; 86(5): 520-4.

15. Haraoka K, Ando Y, Ando E, *et al.* Presence of variant transthyretin in aqueous humor of a patient with familial amyloidotic polyneuropathy after liver transplantation. *Amyloid.* 2002; 9(4): 247-51
16. Ando Y, Ando E, Tanaka Y, Yamashita T, Tashima K, Suga M, Uchino M, Negi A, Ando M. De novo amyloid synthesis in ocular tissue in familial amyloidotic polyneuropathy after liver transplantation. *Transplantation.* 1996; 62(7): 1037-8.
17. Hara R, Kawaji T, Ando E, Ohya Y, Ando Y, Tanihara H. Impact of liver transplantation on transthyretin-related ocular amyloidosis in Japanese patients. *Arch Ophthalmol.* 2010; 128(2): 206-10
18. Rousseau A, Kaswin G, Adams D *et al.* Ocular involvement in familial amyloid polyneuropathy. *J Fr Ophtalmol.* 2013 Nov;36(9):779-88
19. Beirão JM, Moreira LV, Lacerda PC, *et al.* Inability of mutant transthyretin V30M to cross the blood-eye barrier. *Transplantation.* 2012; 94(8): e54-6
20. Martinho A, Gonçalves I, Costa M, Santos CR. Stress and glucocorticoids increase transthyretin expression in rat choroid plexus via mineralocorticoid and glucocorticoid receptors. *J Mol Neurosci.* 2012; 48(1):1-13
21. Maitchouk DY, Beuerman RW, Ohta T, Stern M, Varnell RJ. Tear production after unilateral removal of the main lacrimal gland in squirrel monkeys. *Arch Ophthalmol.* 2000; 118(2): 246-52.
22. Obayashi K, Ando Y. Focus on autonomic dysfunction in familial amyloidotic polyneuropathy (FAP). *Amyloid.* 2012; 19: 28-9.
23. Sandgren O, Ericsson A. Lacrimal dysfunction in familial amyloidotic polyneuropathy (FAP), swedish type. *Arquivos de Medicina.* 1990; 3: 329-33
24. Chung CW, Tigges M, Stone RA. Peptidergic innervation of the primate meibomian gland. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1996; 37(1): 238-45.

TABLE 1. Demographic and Clinical Data of FAP ATTR V30M study patients

TABLE 1. Demographic and Clinical Data of FAP ATTR V30M study patients

	total N=64	non-LT N=32	LT N=32
Age (years), median [IQR]	44.4 [39.6-53.8]	44.5 [39.6-53.89]	43.9[39.8-48.1]
Years of disease, median [IQR]	8.2 [4.8-14.0]	8.2 [4.8-14.0]	8.2 [4.8-14.0]
Male, n (%)	32 (50%)	16 (50%)	16 (50%)
Female, n (%)	32 (50%)	16 (50%)	16 (50%)
Transmitting Parent			
Father, n (%)	22 (34.4%)	10 (31.2%)	12 (37.5%)
Mother, n (%)	40 (62.5%)	21 (65.6%)	19 (59.4%)
Unknown n (%)	2 (3.1%)	1 (3.1%)	1 (3.1%)
Age of Onset			
< 40 years old	92 (71.9%)	46 (71.9%)	46 (71.9%)
>40 years old	36 (28.1%)	18 (28.1%)	18 (28.1%)

TABLE 2 - Prevalence of ocular manifestations (global and both non-LT and LT patients)

TABLE 2 - Prevalence of ocular manifestations (global and both non-LT and LT patients)

	Total (N=128)	non LT (N=64)	LT (N=64)	P-v
ACV, n (%)	22 (17.2%)	12 (18.8%)	10 (15.5%)	P=0.639
Positive Schirmer test, n (%)	88 (68.8%)	52 (81.2%)	36 (56.2%)	P=0.002
Positive TBUT, n (%)	106 (82.8%)	54 (84.4%)	52 (81.2%)	P=0.639
Amyloid, Iris, n (%)	31 (24.2%)	14 (21.9%)	17 (26.6%)	P=0.536
Scalloped Iris, n (%)	22 (17.2%)	12 (18.8%)	10 (15.6%)	P=0.639
Amyloid, Lens, n (%)	26 (20.3%)	10 (15.6%)	16 (25.0%)	P=0.187
Amyloid, vitreous, n (%)	17 (13.3%)	7 (10.9%)	10 (15.6%)	P=0.435
Retinal angiopathy, n (%)	1 (0.8%)	1 (1.6%)	0 (0%)	P=0.315
Glaucoma, n (%)	11 (8.6%)	5 (7.8%)	6 (9.4%)	P=0.752

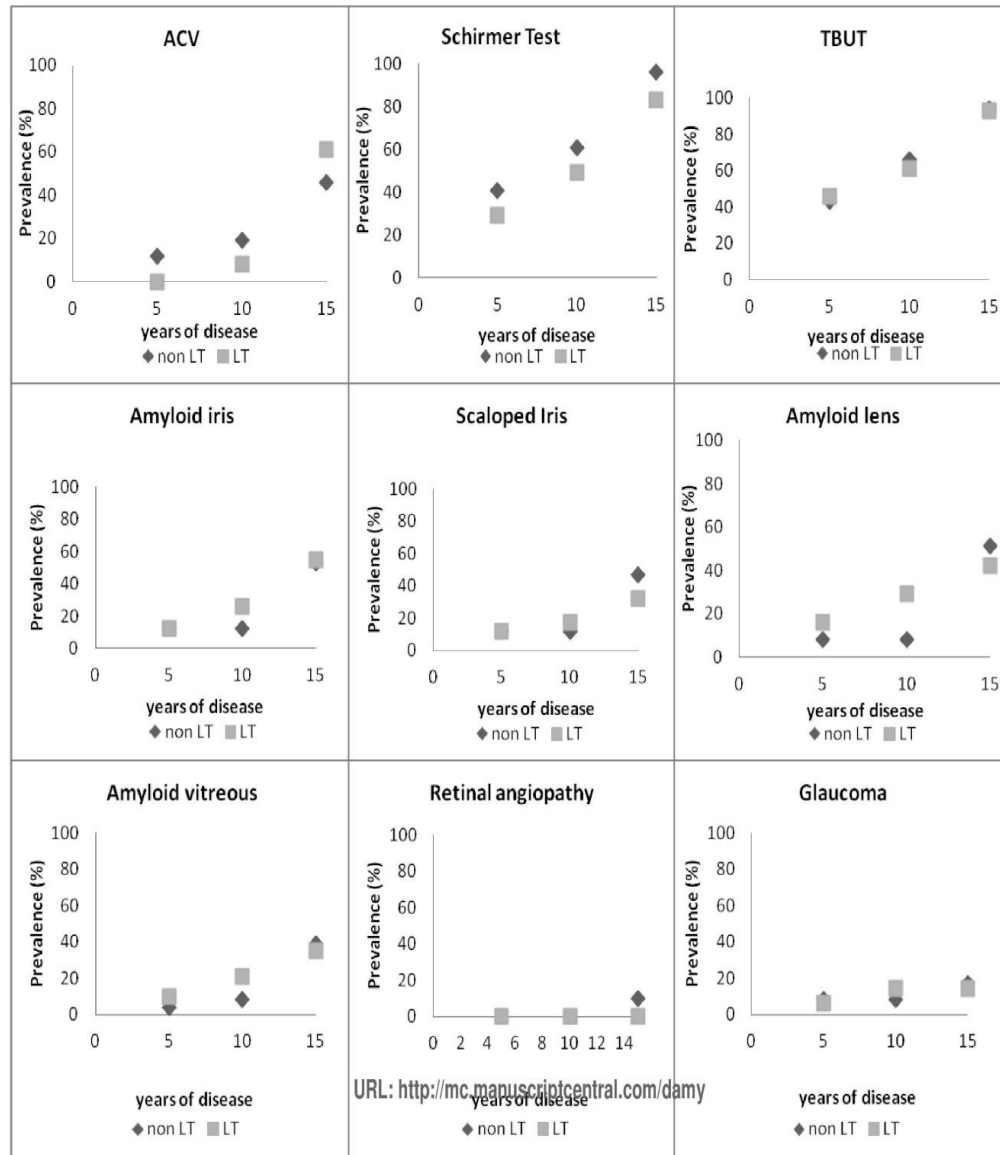
TABLE 3: Prevalence of ocular manifestations at 5, 10 and 15 years of disease in non LT and LT patients

TABLE 3: Prevalence of ocular manifestations at 5, 10 and 15 years of disease in non LT and LT patients

	5 years	10 years	15 years	Log-rank test
LT/T (patients, n)	14/14	11/11	7/7	
ACV (non LT/LT), %	12 / 0	19 / 8	46 / 61	P=0.686
SCHIRMER (non LT/LT), %	41 / 29	61 / 49	96 / 83	P=0.071
TBUT (non LT/LT), %	43 / 46	66 / 61	94 / 93	P=0.855
Amyloid, iris (non LT/LT), %	12 / 12	12 / 26	53 / 55	P=0.547
Scaloped iris (non LT/LT), %	12 / 6	12 / 17	47 / 32	P=0.661
Amyloid, lens (non LT/LT), %	8 / 16	8 / 29	51 / 42	P=0.222
Amyloid, vitreous (non LT/LT), %	4 / 10	8 / 21	39 / 35	P=0.469
Retinal angiopathy (non LT/LT), %	0 / 0	0 / 0	10 / 0	P=0.317
Glaucoma (non LT/LT), %	8 / 6	8 / 14	17 / 14	P=0.745

Figure : Prevalence of ocular abnormalities at 5, 10 and 15 years of disease in non-liver transplanted (non LT) and liver transplanted (LT) FAP patients

Figure : Prevalence of ocular abnormalities at 5, 10 and 15 years of disease in non-liver transplanted (non LT) and liver transplanted (LT) FAP patients



Introdução

Descrição das alterações oftalmológicas da PAF na população portuguesa

Impacto do transplante hepático na oculopatia

IV → Descrição de outras alterações: Presbiopia e Sensibilidade ao Contraste

Eritropoietina e neuroproteção no glaucoma

Terapêutica da oculopatia da PAF

Alterações oculares de recetores de fígado PAF e risco de oculopatia

Discussão

Conclusões

Perspetivas futuras

IV → Descrição de outras alterações:

Presbiopia e Sensibilidade ao Contraste

Beirão M, Matos E, Beirão I, Costa PP, Torres P. Anticipation of presbyopia in Portuguese familial amyloidosis ATTR V30M. *Amyloid*. 2011 Sep;18(3):92-7.

Beirão M, Matos E, Reis R, Beirão I, Costa PP, Torres P. Spatial visual contrast sensitivity in liver transplanted Portuguese familial amyloidotic polyneuropathy (ATTR V30M) patients. *Amyloid*. 2012 Sep;19(3):152-5.

RESUMO

O objetivo destes estudos foi avaliar se os doentes PAF portugueses, transplantados e não transplantados hepáticos, apresentavam um desenvolvimento mais precoce da presbiopia em relação à população normal e a sua relação com a presença de deposição de amiloide na cápsula anterior do cristalino. Foram avaliados 356 pessoas, 144 doentes com PAF e 212 indivíduos saudáveis quanto à necessidade de lentes positivas para a leitura normal à distância de 33 cm. Nos doentes com PAF o valor de lente positiva estava relacionado com a idade e a presença de opacificação da cápsula anterior do cristalino. Em ambos os grupos o valor de lente positiva necessária correlacionou-se positivamente com a idade. Os doentes PAF necessitavam de um valor mais elevado de adição, que os controles da mesma idade e necessitavam de óculos para ler numa idade mais precoce. A idade de início da presbiopia (extrapolação) nos doentes com PAF foi significativamente mais baixa, do que os indivíduos saudáveis.

Ajustando para a idade, não foram encontradas diferenças significativas na lente positiva necessária entre doentes PAF transplantados e não transplantados, sugerindo que o transplante não tem influência na evolução da presbiopia nestes doentes.

Assim concluímos, que os doentes PAF têm um início mais precoce da presbiopia relacionado com a deposição de amiloide na cápsula anterior do cristalino, e que a sua evolução não sofre influência do transplante hepático.

Os doentes PAF, mesmo os transplantados hepáticos, desenvolvem presbiopia mais precocemente, devido à deposição de amiloide na capsula anterior do cristalino. Alguns doentes, apesar de apresentarem visão de 10/10, referiam repetidamente, queixas de alterações da qualidade da visão. Foi efetuado um estudo retrospectivo, não randomizado, onde foi investigada a sensibilidade ao contraste espacial em doentes PAF com a melhor acuidade visual corrigida de 10/10, em ambos os olhos. Foram selecionados 25 doentes, em que apenas um dos olhos apresentava opacificação visível da capsula anterior do cristalino e função lacrimal semelhantes (teste de Schirmer e tempo de rotura filme lacrimal).

Os olhos dos doentes PAF apresentavam menor sensibilidade ao contraste espacial do que os olhos normais, mesmo na ausência de opacificação visível da

cápsula anterior do cristalino. Foram também comparados os olhos dos doentes PAF, com e sem opacificação da cápsula anterior do cristalino e em todas as frequências espaciais testadas, os olhos com opacificação apresentavam pior sensibilidade ao contraste.

Esta baixa da sensibilidade ao contraste espacial apresentada pelos doentes PAF poderá explicar as queixas visuais destes doentes, mesmo com boas acuidades visuais.

A sensibilidade ao contraste espacial ao ser afetada pelo olho seco, agravada pela opacificação da capsula anterior do cristalino e provavelmente também pela deposição de amiloide no vítreo, poderá ser um método importante na deteção do início e no seguimento da doença oftalmológica nos doentes PAF.

ORIGINAL ARTICLE

Anticipation of presbyopia in Portuguese familial amyloidosis ATTR V30M

Melo Beirão¹, Eduarda Matos², Idalina Beirão³, Paulo Pinho E. Costa⁴, & Paulo Torres¹

¹Ophthalmology, Centro Hospitalar do Porto, Porto, Portugal, ²UMIB, ICBAS, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Porto, Portugal, ³Unidade Clínica de Paramiloidose, Hospital de Santo António, Porto, Portugal, ⁴INSA Dr. Ricardo Jorge, Porto, Portugal

The aim of this study was to evaluate if Portuguese patients with familial amyloidosis, liver transplanted and not, have an earlier development of presbyopia compared with a normal population and its relation with the presence or the absence of anterior capsule opacification of the lens. This study was performed to evaluate if Portuguese patients with familial amyloidosis and in a blood donors population (control group). Three hundred and fifty-six subjects, 144 amyloidotic patients and 212 healthy individuals, were evaluated for the need of plus lenses for normal near reading (Jaeger chart 1 at 33 cm). In familial amyloidosis patients, the value of the add-power was related to age, liver transplantation status, and presence of visible anterior capsule opacification of the lens. In both groups, the value of add-power was positively correlated with age ($r=0.91$; $P<0.005$). Familial amyloidosis patients require more add-power than control individuals of similar age, and need to use reading glasses at earlier ages. The age of onset of presbyopia in familial amyloidosis patients was significantly lower than in control individuals (32 years vs. 42 years). Adjusting for age, no significant difference was observed in add-power values between liver transplanted and not transplanted amyloidotic patients, suggesting that liver transplantation has no influence on presbyopia evolution in these patients. Familial amyloidosis patients had an earlier onset of presbyopia, probably related to amyloid deposition on the anterior capsule of the lens, which is not halted by liver transplantation.

Keywords: Presbyopia, amyloid, familial amyloidotic polyneuropathy, accommodation, lens

Abbreviations: FAP, familial amyloid polyneuropathy; TTR, transthyretin

Introduction

Familial amyloidotic polyneuropathy (FAP) type I (Portuguese type) is an autosomal dominant inherited disorder associated with an amyloidogenic variant of transthyretin

(TTR) in which valine has been replaced by methionine at position 30, TTR V30M mutation [1,2]. TTR is a tyroxine and a vitamin A carrier protein, synthesized mainly by the liver [3]. Although this mutation is also common in Swedish and Japanese FAP patients, its penetrance is higher in Portugal [4]. Systemic amyloid deposition in the peripheral nerves and in other organs leads to a distinct clinical presentation, first described by Andrade in 1952 in families from northern Portugal [5]. The disease is progressive, highly disabling, and without orthotopic liver transplantation, leads to death on an average of 11 years after the clinical presentation, especially in those who became symptomatic before the age of 40 years (early onset patients) [6].

Ocular abnormalities in familial amyloidotic Portuguese patients are common and include abnormal conjunctival vessels, keratoconjunctivitis sicca, pupillary abnormalities, glaucoma, and vitreous opacities [3,5,7–12]. Most of these conditions do not improve with orthotopic liver transplantation, a crude form of genetic therapy that works by removing the mutant TTR from circulation. On the contrary, their prevalence probably increases due to the longer survival of the transplanted FAP patients and the continued intraocular production of the mutant TTR by the pigmentary epithelium and the pigmented ciliary body [13–15, 14].

Presbyopia is an age-related loss of lens accommodation that results in an inability to focus at near distances. It is the most common age-related physiological change occurring in the adult eye, and causes universal near vision impairment with advancing age [16], with an incidence of 100% by the age of 50 years. Some authors advocate that it could be the first step of nuclear cataract due to the denaturation of proteins in the lens [17,18] and that this age-dependent feature can be related to the lack of macromolecular turnover in the lens and to the inexorable modifications of proteins and membrane components over a period of decades [19]. Good near vision is important, even among populations who use it for tasks other than reading and writing [20,21] and presbyopia is associated

with a nominal decrease in quality of life [22] and substantial negative effects on health-related quality of life [23].

Several theories have been developed to explain the appearance and evolution of presbyopia. Although the loss of elasticity of the crystalline lens is the most consistent theory [18,24], changes in the lens' curvature from continual growth and power loss of the ciliary muscles (the muscles that bend and straighten the lens) have also been postulated as important causes [25–29]. It was also proposed that the uveal tract was implicated in the development of presbyopia [26]. During accommodation, through the contraction of ciliary muscles, the lenticular radius and the anterior surface of the lens change, particularly the last due to its greater elasticity [30–36]. Familial amyloidotic patients develop autonomic neuropathy [37,38] and the ciliary muscle has autonomic innervation. The parasympathetic signal for accommodation is carried by cranial nerve III (the oculomotor nerve) and synapsing at the ciliary ganglion, which could be weaker in these patients. Moreover, amyloid deposits have been observed on the anterior surface of the lens [3,39,40], possibly making it harder and less elastic. Both mechanisms could affect the accommodation in these patients, perhaps in different degrees.

The aims of this study were to compare the need of plus lenses for normal near reading in familial amyloidotic Portuguese patients, submitted or not to liver transplantation with a normal population group, matched for age and gender and to evaluate the influence of visible amyloid deposits on anterior lens capsule in presbyopia in familial amyloidotic patients.

Methods

Patients

One hundred and forty-four amyloidotic patients with the TTR V30M mutation were randomly selected at the Amyloid Research Centre of our hospital. A control group of 212 blood donors, recruited between 2006 and 2009, was also evaluated by the same medical team at the Ophthalmology Department outpatient clinic of *Centro Hospitalar do Porto*. The exclusion criteria for this study were the use of eye topical medications other than artificial tears, previous eye surgery, treatment with psychotropic drugs in the previous 6 months, eyes with hyperopia detected with the use of topical tropicamide at 1% and presence of ocular pathology (e.g., cataract, glaucoma, keratitis, vitreous amyloid, and retinal pathology). All patients in this study were required to be able to read Portuguese.

Hundred forty four familial amyloidotic patients, of which 78 (54.2%) were male and 66 (45.8%) were female, with a mean age of 48.6 ± 5.0 (36–62) years were involved. Of this

group, 75% (108 patients) were liver transplanted. In the control group, 55.7% were male, with a mean age of 47.65 ± 6.57 (40–58) years (Table I).

Methods

All patients were submitted to an ophthalmic examination in the same room, under the same light ambience, with the same refraction unit and by the same senior ophthalmologist at the Ophthalmology Department of Hospital Santo Antonio/Centro Hospitalar do Porto. The distance refraction was determined uniformly for all subjects and all had best corrected visual acuity at least 18/20 Snellen chart. The near visual acuity was measured in monocularly (the nondominant eye) at a distance of exactly 33 cm, as protocol of our Department. The value of one eye was used because the binocular accommodation could be greater due the addition of vergence accommodation [41]. All patients were placed to read with the correction for distance vision. Correction lenses were added in steps of 0.25 diopters and, between steps, patient was asked to read. The addition was determined as the minimum necessary to achieve a normal speed of reading of the same Jaeger chart 1 Portuguese text. The values were between 0 and +3.00, with steps of 0.25 diopters. For comparative analysis, FAP patients were further divided into subgroups: liver transplanted and not transplanted and with and without visible opacification of the anterior capsule of the lens. Statistical analysis used the Chi-squared, Wilcoxon, and Fisher tests for subgroup comparison as appropriate. The mean age and mean add-power in each group was compared by Student's *t*-test. To explore the relation between age and add-power lenses, univariate analysis was done using the Pearson correlation. Factors significant at the univariate analysis were assessed using multiple linear regression modeling and analysis of variance with add-power as the dependent factor. A significance level of 0.05 was adopted. All calculations were conducted using the PASW statistics17 software package (SPSS Inc, an IBM Company). This work had been carried out in accordance with *The Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki) for experiments involving humans*. Additionally, this study was approved by local ethical Board of Centro Hospitalar do Porto.

Results

In FAP patients, the value of add-power was positively correlated with age ($r=0.91$; $P<0.005$). As expected, positive correlation was also observed in normal individuals ($r=0.94$, $P<0.005$). The regression equation that correlates the add-power with age for FAP patients was: add-power = $-3.78 + 0.12 \times \text{age}$ (year), and for normal individuals was:

Table I. Demographic and clinical data of FAP and healthy individuals.

	FAP	Controls	
Age (yrs)	48.60 ± 5.00 (36–62)	47.65 ± 6.57 (40–58)	$P=0.14$
Male	78	118	$P=0.28$
Female	66	94	
Liver transplanted	108	Not applicable	
Not liver transplanted	36	Not applicable	

add-power = $-6.23 + 0.15 \times \text{age}$ (year). The difference in the intercepts and slopes of the regression lines was statistically different ($P < 0.001$) (Figure 1).

By analyzing the intersections between the age and each group of patients in regard to add-power, we found that it is statistically significant (analysis of variance $P < 0.0005$), demonstrating that FAP patients require more add-power than control individuals of similar age, and need to use reading glasses at earlier ages: they are presbyopic sooner in life, and need more diopters added than expected for a given age compared with the normal population. By multiple regression analysis, with the add-power as dependent variable and the age and the group (familial amyloidotic and normal patients) as independent variables, we obtained a significant equation ($P < 0.0005$) that explains 88% of the variation in add-power according to the variables age and group. The equation obtained was add-power = $-5.404 + 0.928 \times \text{group}$ (familial amyloidotic patients = 1; normal individuals = 0) + 0.134. For example, for an age of 42 years in a amyloidotic patient, the found addition is +1.152, that is more 0.928 diopters than in a normal individual of the same age (add-power = +0.224 diopters). Based on this analysis, we observed that the age of onset of presbyopia in amyloidotic patients is significantly lower than the age of onset of presbyopia observed in control individuals (33 years vs. 42 years). Further, there is an anticipation of

presbyopia, with a need of add-power of +3.00 for Jaeger 1 at 33 cm at 56 years of age in amyloidotic patients, while in normal individuals, this add-power value is only reached by 62 years of age.

Adjusting for age, no significant difference was observed in add-power values between liver transplanted and not transplanted amyloidotic patients. Age was the determinant factor rather than liver transplantation (analysis of variance with add-power as dependent variable, liver transplant as independent variable, and age as covariate; $P = 0.851$). These results suggest that liver transplantation has no influence on the evolution of presbyopia in familial amyloidotic patients.

In the group of 144 amyloidotic patients, visible anterior capsule opacification in the slit lamp examination was presented in 82 (57%) patients. FAP patients without visible anterior capsule opacification of the lens needed more add-power than age-matched normal individuals (Student's *t*-test, $P < 0.001$). Further, patients with visible opacification of the anterior capsule of the lens needed more addition than age-matched amyloidotic patients without visible opacification (analysis of variance with add-power as dependent variable, visible opacification as independent variable, and age as covariate; $P = 0.02$). Visible opacification of the anterior lens capsule seems to contribute to worsening the near vision in familial amyloidotic patients.

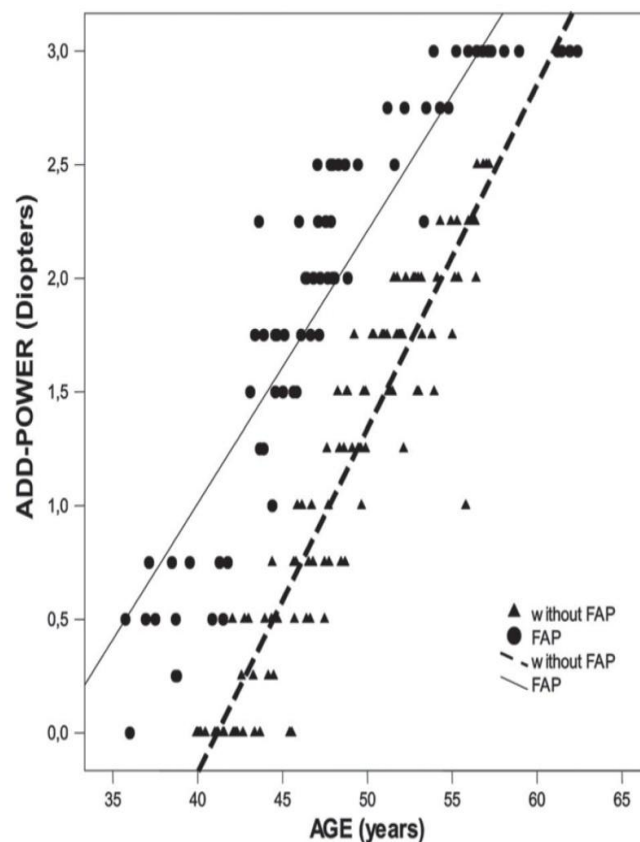


Figure 1. Correlation between ADD-power (Diopters) and Age (years) in FAP patients (continuous line) and in healthy individuals (dashed line).

Discussion

Accommodation is present at birth but does not become accurate until 4 months of age of 40–45 years when presbyopia appears, which creates the need of glasses for reading or near vision [45]. Adequate knowledge of the pathophysiology of presbyopia is essential for the design of effective and predictable refractive presbyopic surgery. An inquiry into its etiology is nonetheless of interest because the rate of decline differs from that of some 100 other human biological functions [46]. Until now, no consensus on the full understanding of the mechanism of presbyopia was achieved. Although there has been intensive recent discussion of the theories of accommodation proposed by Coleman [47–49], Scharchar [50,51], and Tscherning [52], the Helmholtz theory [53], while not free from some controversy, still continues to be the most accepted [54,55]. This theory postulates that accommodation is controlled by ciliary muscle contraction, releasing zonular tension, thus leading to a rounder lens with a decreased equatorial diameter. These changes increase the dioptric power of the lens, making near vision possible. Accommodative amplitude diminishes with age and presbyopia, probably due to the loss of flexibility and elasticity of the anterior capsule. This leads to the lens inability to become rounder when the ciliary muscle contracts [56]. The accommodative structures change with age and of all documented changes, the stiffening of the lens [57–60] and changes in thickness and elasticity of the capsule [61–63], are undoubtedly the most significant changes that contribute to presbyopia. The ciliary body maintains its efficiency with age [64].

Study groups were matched for gender. This is important because recent research has shown that there are differences between men and women in the prevalence, age of onset, and severity of presbyopia [65]. Women are affected by presbyopia earlier than men [66] and have more severe presbyopia across all age groups [65,67].

Amyloid deposits were observed on anterior capsule of the lens in amyloidotic patients, with and without liver transplant, either by direct observation of the eye at the slit lamp [3] or by anatomopathological observation at autopsy [15,39]. This deposition can lead to an increase of the rigidity of the anterior capsule of the lens and to a reduction of accommodation, according to the Helmholtz theory. This could explain the earlier and more marked presbyopia that was found in FAP patients. After adjusting for age, no significant differences were observed on add-power between transplanted and not transplanted patients. The absence of differences after transplantation suggests that amyloid deposition in the anterior capsule of the lens continues and is probably due to amyloid fibrils formed by TTR V30M produced locally by the pigment epithelium and ciliary pigment epithelium of the eye [68,69] instead of amyloid formed from serum TTR V30M that crossed the blood–ocular barrier. Parasympathetic neuropathy can also contribute to presbyopia, since the parasympathetic system controls accommodation through the ciliary muscle innervation. However, this hypothesis is less likely because cranial nerves are usually spared in Portuguese FAP neuropathy [70].

The amyloid deposition in the ciliary body (around the walls of blood vessels) and within the ciliary muscle [15], identified at autopsy, could also contribute to the anticipation of presbyopia in FAP patients. However, *in vivo* studies, it is difficult to clarify the contribution of amyloid deposition in the muscles of the ciliary body in the anticipation of presbyopia and could not explain by themselves, our results, unless there was true parallelism between the deposition of amyloid in the anterior capsule of the lens and deposition in the ciliary body muscles.

The FAP patients without visible opacified anterior capsule at the slit lamp observation needed significantly higher add-power, compared to normal subjects. Comparing those with and without visible amyloid deposition at the anterior capsule of the lens, we found that amyloidotic patients with visible opacification of the anterior capsule of the lens required significantly higher add-power for normal near vision than age-matched amyloidotic patients without opacification. This progressive need of addition for near vision could be explained by the progressive deposition of amyloid in the anterior capsule, initially visible only at microscopic level and posteriorly at macroscopic level. Probably there is a gradual loss of elasticity of the anterior capsule of the lens with the amyloid deposition. This gradation also points to the role of the elasticity loss of the lens capsule in the anticipation of presbyopia in patients with FAP. This finding highlights the importance of anterior lens capsule in accommodation and support the Helmholtz theory.

Familial amyloidotic patients became presbyopic earlier in life and that seems to be related to amyloid deposition in the anterior capsule of the lens, which probably causes an earlier decrease in elasticity and stiffening of the lens. This deposition is probably dependent on local TTR V30M production because it is not prevented by liver transplantation. This study demonstrates the anticipation of presbyopia in familial amyloidosis TTR V30M patients. The increasing number of familial amyloidotic type I patients, with the identification of new families and new patients, and the longer survival of the transplanted patients [14], allows us to predict an increase in the number of patients with complaints of presbyopia. Clinicians should be aware to any ocular changes in familial amyloidotic patients and to the earlier and more marked needs in add-power for normal near vision in these patients to preserve quality of life and allow a longer active life.

Declaration of interest: The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of the paper.

References

1. Saraiva MJ, Costa PP, Goodman DS. Genetic expression of transthyretin mutation in typical and late onset Portuguese families with familial amyloidotic polyneuropathy. *Neurology* 1986;36:1413–1417.
2. Costa PP, Figueira A, Bravo F. Amyloid fibril protein related to prealbumin familial amyloidotic polyneuropathy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1978;75:4499–4503.
3. Sandgren O, Kjellgren D, Suhr OB. Ocular manifestations in liver transplant recipients with familial amyloid polyneuropathy. *Acta Ophthalmol* 2008;86:520–524.
4. Dardiotis E, Koutsou P, Zamba-Papanicolaou E, Vonta I, Hadjivassili-

- iou M, Hadjigeorgiou G, Cariolou M, Christodoulou K, Kyriakides T. Complement C1Q polymorphisms modulate onset in familial amyloidotic polyneuropathy TTR Val30Met. *J Neurol Sci* 2009;284:158-162.
5. Andrade C. Familial atypical generalized amyloidosis with specific involvement of peripheral nerves. *Brain* 1952; 75:408-427.
6. Sousa A, Coelho T, Morgado R, Coutinho P. Statistical analysis of factor which may influence the duration of familial amyloidotic polyneuropathy type I. In *Familial amyloidotic polyneuropathy and other transthyretin related disorders*. Costa PP, Falcão de Freitas A, Saraiva MJ, editors. Porto: Arquivos de Medicina 1990. pp 351-355.
7. Sandgren O, Drugge U, Holmgren G, Sousa A. Vitreous involvement in familial amyloidotic neuropathy: a genealogical and genetic study. *Clin Genet* 1991;40:452-460.
8. Sandgren O. Ocular amyloidosis, with special reference to the hereditary forms with vitreous involvement. *Surv Ophthalmol* 1995;40:173-196.
9. Rubinow A, Cohen AS. Scalloped pupils in familial amyloid polyneuropathy. *Arthritis Rheum* 1986;29:445-447.
10. Kimura A, Ando E, Fukushima M, Koga T, Hirata A, Arimura K, Ando Y, Negi A, Tanihara H. Secondary glaucoma in patients with familial amyloidotic polyneuropathy. *Arch Ophthalmol* 2003;121:351-356.
11. Ando E, Ando Y, Okamura R, Uchino M, Ando M, Negi A. Ocular manifestations of familial amyloidotic polyneuropathy type I: long-term follow up. *Br J Ophthalmol* 1997;81:295-298.
12. Monteiro JG, Martins AF, Figueira A, Costa PP. Ocular changes in familial amyloidotic polyneuropathy with dense vitreous opacities. *Eye* 1991;5:99-105.
13. Ando E, Ando Y, Haraoka K. Ocular amyloid involvement after liver transplantation for polyneuropathy. *Ann Intern Med* 2001;135:931-932.
14. Okamoto S, Wixner J, Obayashi K, Ando Y, Ericzon BG, Friman S, Uchino M, Suhr OB. Liver transplantation for familial amyloidotic polyneuropathy: impact on Swedish patients' survival. *Liver Transpl* 2009;15:1229-1235.
15. Haraoka K, Ando Y, Ando E, Sandgren O, Hirata A, Nakamura M, Terazaki H, Tajiri T, Tanoue Y, Sun X, et al. Amyloid deposition in ocular tissues of patients with familial amyloidotic polyneuropathy (FAP). *Amyloid* 2002;9:183-189.
16. Weale RA. Why we need reading-glasses before a zimmer-frame. *Vision Res* 2000;40:2233-2240.
17. McGinty SJ, Truscott RJ. Presbyopia: the first stage of nuclear cataract? *Ophthalmic Res* 2006;38:137-148.
18. Truscott RJ. Presbyopia. Emerging from a blur towards an understanding of the molecular basis for this most common eye condition. *Exp Eye Res* 2009;88:241-247.
19. Truscott RJ, Zhu X. Presbyopia and cataract: a question of heat and time. *Prog Retin Eye Res* 2010;29:487-499.
20. Patel I, Munoz B, Burke AG, Kayongoya A, McHiwa W, Schwarzwaldner AW, West SK. Impact of presbyopia on quality of life in a rural African setting. *Ophthalmology* 2006;113:728-734.
21. Patel I, West SK. Presbyopia: prevalence, impact, and interventions. *Community Eye Health* 2007;20:40-41.
22. Luo BP, Brown GC, Luo SC, Brown MM. The quality of life associated with presbyopia. *Am J Ophthalmol* 2008;145:618-622.
23. McDonnell PJ, Lee P, Spritzer K, Lindblad AS, Hays RD. Associations of presbyopia with vision-targeted health-related quality of life. *Arch Ophthalmol* 2003;121:1577-1581.
24. Hermans EA, Dubbelman M, van der Heijde GL, Heethaar RM. Change in the accommodative force on the lens of the human eye with age. *Vision Res* 2008;48:119-126.
25. Atchison DA. Accommodation and presbyopia. *Ophthalmic Physiol Opt* 1995;15:255-272.
26. Strenk SA, Strenk LM, Koretz JE. The mechanism of presbyopia. *Prog Retin Eye Res* 2005;24:379-393.
27. Weale R. Presbyopia toward the end of the 20th century. *Surv Ophthalmol* 1989;34:15-30.
28. Gilmartin B. The aetiology of presbyopia: a summary of the role of lenticular and extralenticular structures. *Ophthalmic Physiol Opt* 1995;15:431-437.
29. Croft MA, Glasser A, Kaufman PL. Accommodation and presbyopia. *Int Ophthalmol Clin* 2001;41:33-46.
30. Kirschkamp T, Dunne M, Barry JC. Phakometric measurement of ocular surface radii of curvature, axial separations and alignment in relaxed and accommodated human eyes. *Ophthalmic Physiol Opt* 2004;24:65-73.
31. Koretz JE, Handelman GH, Brown NP. Analysis of human crystalline lens curvature as a function of accommodative state and age. *Vision Res* 1984;24:1141-1151.
32. Koretz JE, Cook CA, Kaufman PL. Accommodation and presbyopia in the human eye. Changes in the anterior segment and crystalline lens with focus. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997;38:569-578.
33. Koretz JE, Cook CA, Kaufman PL. Aging of the human lens: changes in lens shape upon accommodation and with accommodative loss. *J Opt Soc Am A Opt Image Sci Vis* 2002;19:144-151.
34. Ziebarth NM, Manns F, Uhlhorn SR, Venkatraman AS, Parel JM. Noncontact optical measurement of lens capsule thickness in human, monkey, and rabbit postmortem eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:1690-1697.
35. Dubbelman M, Van der Heijde GL, Weeber HA. Change in shape of the aging human crystalline lens with accommodation. *Vision Res* 2005;45:117-132.
36. Kasthurirangan S, Glasser A. Age related changes in accommodative dynamics in humans. *Vision Res* 2006;46: 1507-1519.
37. Guevara C, Barrientos N, Flores A, Idiáquez J. Familial amyloidotic polyneuropathy type I. *Rev Med Chil* 2003;131: 1179-1182.
38. Carvalho MJ, van Den Meiracker AH, Boomsma F, Lima M, Freitas J, Veld AJ, Falcao De Freitas A. Diurnal blood pressure variation in progressive autonomic failure. *Hypertension* 2000;35:892-897.
39. Futa R, Inada K, Nakashima H, Baba H, Kojima Y, Okamura R, Araki S. Familial amyloidotic polyneuropathy: ocular manifestations with clinicopathological observation. *Jpn J Ophthalmol* 1984;28:289-298.
40. Haraoka K, Ando Y, Ando E, Sun X, Nakamura M, Terazaki H, Misumi S, Tanoue Y, Tajiri T, Shoji S, et al. Presence of variant transthyretin in aqueous humor of a patient with familial amyloidotic polyneuropathy after liver transplantation. *Amyloid* 2002;9:247-251.
41. Duane A. Studies in monocular and binocular accommodation with their clinical implications. *Am J Ophthalmol* 1922;5:865-877.
42. Banks MS. The development of visual accommodation during early infancy. *Child Dev* 1980;51:646-666.
43. Banks MS. Infant refraction and accommodation. *Int Ophthalmol Clin* 1980;20:205-232.
44. Brookman KE. Ocular accommodation in human infants. *Am J Optom Physiol Opt* 1983;60:91-99.
45. Moses RA. Accommodation. Adler's physiology of the eye. Clinical application. In: Moses RA, editor. St. Louis: Mosby 1981. pp 291-310.
46. Weale RA. Evolution, age and ocular focus. *Mech Ageing Dev* 1990;53:85-89.
47. Coleman DJ. Unified model for accommodative mechanism. *Am J Ophthalmol* 1970;69:1063-1079.
48. Coleman DJ. On the hydraulic suspension theory of accommodation. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1986;84:846-868.
49. Coleman DJ, Fish SK. Presbyopia, accommodation, and the mature catenary. *Ophthalmology* 2001;108:1544-1551.
50. Schachar RA. Cause and treatment of presbyopia with a method for increasing the amplitude of accommodation. *Ann Ophthalmol* 1992;24:445-447.
51. Chien CH, Huang T, Schachar RA. A model for crystalline lens accommodation. *Compr Ther* 2003;29:67-75.
52. Tscherning M. Accommodation. Physiologic optics. Philadelphia: The Keystone 1920.
53. Von Helmholtz H. Mechanism of accommodation. Helmholtz's treatise on physiological optics. In: Southall JPC, editor. Bristol, England: Thoemmes Press 2000. pp 375-415.
54. Mordi JA, Ciuffreda KJ. Static aspects of accommodation: age and presbyopia. *Vision Res* 1998;38:1643-1653.
55. Mordi JA, Ciuffreda KJ. Dynamic aspects of accommodation: age and presbyopia. *Vision Res* 2004;44:591-601.
56. Marmer RH. The surgical reversal of presbyopia: a new procedure to restore accommodation. *Int Ophthalmol Clin* 2001;41:123-132.
57. Glasser A, Campbell MC. Biometric, optical and physical changes in the isolated human crystalline lens with age in relation to presbyopia. *Vision Res* 1999;39: 1991-2015.
58. Heys KR, Cram SL, Truscott RJ. Massive increase in the stiffness of the human lens nucleus with age: the basis for presbyopia? *Mol Vis* 2004;16:956-963.
59. Weeber HA, Eckert G, Soergel F, Meyer CH, Pechhold W, van der Heijde RG. Exp dynamic mechanical properties of human lenses. *Exp Eye Res* 2005;80:425-434.
60. Weeber HA, Eckert G, Pechhold W, van der Heijde RG. Stiffness gradient in the crystalline lens. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2007;245:1357-1366.
61. Krag S, Olsen T, Andreassen TT. Biomechanical characteristics of the

- human anterior lens capsule in relation to age. Invest Ophthalmol Vis Sci 1997;38:357-363.
62. Krag S, Andreassen TT. Mechanical properties of the human posterior lens capsule. Invest Ophthalmol Vis Sci 2003; 44:691-696.
63. Burke AG, Patel I, Munoz B, Kayongoya A, McHiwa W, Schwarzwaldner AW, West SK. Population-based study of presbyopia in rural Tanzania. Ophthalmology 2006;113:723-727.
64. Heron G, Charman WN. Accommodation as a function of age and the linearity of the response dynamics. Vision Res 2004;44:3119-3130.
65. Krag S, Andreassen TT. Mechanical properties of the human lens capsule. Prog Retin Eye Res 2003;22:749-767.
66. Cavallaro T, Martone RL, Dwork AJ, Schon EA, Herbert J. The retinal pigment epithelium is the unique site of transthyretin synthesis in the rat eye. Invest Ophthalmol Vis Sci 1990;31:497-501.
67. Patel I, West S. Gender differences in presbyopia. Community Eye Health 2009;22:27.
68. Pointer JS. The presbyopic add. II. Age-related trend and a gender difference. Ophthalmic Physiol Opt 1995;15:241-248.
69. Kawaji T, Ando Y, Nakamura M. Transthyretin synthesis in rabbit ciliary pigment epithelium. Exp Eye Res 2005;81:306-312.
70. Santos M, Castro L, Rio E, Coutinho P. Cranial nerve involvement in type I (TTR Met30) familial amyloidotic polyneuropathy. In Familial amyloidotic polyneuropathy and other transthyretin related disorders. Costa PP, Falcão de Freitas A, Saraiva MJ, editors. Porto: Arquivos de Medicina 1990. pp 275-278.

ORIGINAL ARTICLE

Spatial visual contrast sensitivity in liver transplanted Portuguese familial amyloidotic polyneuropathy (ATTR V30M) patients

Melo Beirão^{1,2}, Eduada Matos³, Rita Reis¹, Idalina Beirão^{2,3}, Paulo P. Costa^{3,4} & Paulo Torres^{1,3}

¹Department of Ophthalmology, Centro Hospitalar Porto, Praça Prof. Abel Salazar, Porto, Portugal, ²Unidade Clínica de Paramiloidose, Hospital de Santo António, Porto, Portugal, ³UMIB, ICBAS – Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Porto, Portugal, and ⁴INSA Dr. Ricardo Jorge, Porto, Portugal

Liver transplanted patients with familial amyloidosis (FAP) patients develop earlier presbyopia due to the deposition of amyloid on the anterior capsule of the lens. Despite normal visual acuity of 20/20 Snellen chart, some patients reported complaints of impaired vision. The aim of this study is to investigate the visual spatial contrast sensitivity in these patients. This is a retrospective, nonrandomized study. Spatial contrast sensitivity was performed in both eyes of 25 FAP patients with best correct visual acuity of 20/20 Snellen chart. In each patient, one eye had visible opacification of anterior capsule of the lens. FAP patients had poorer visual contrast sensitivity than normal even in absence of visible opacification of the anterior capsule of the lens. Comparing eyes with visible opacification of anterior capsule of the lens with eyes without visible opacification of the anterior capsule of the lens, a worse visual sensitivity was observed at all frequencies tested. This occurred with similar lacrimal function in both groups. The eyes of FAP patients have decreased spatial contrast sensitivity which is worse in presence of visible opacification of the anterior capsule of the lens. This could explain the visual complaints in presence of normal visual acuity by Snellen chart.

Keywords: amyloid, contrast sensitivity, FAP-I, familial amyloidosis with polyneuropathy, liver transplantation, transthyretin, TTR V30M

Abbreviations: ATTR V30M, amyloid transthyretin with amino acid substitution of methionine for valine at position 30; BCVA, best corrected visual acuity; cpd, cycles per degree; dB, decibels; FAP, familial amyloidosis with polyneuropathy; TTR V30M, transthyretin with amino acid substitution of methionine for valine at position 30; TBUT, tear break-up time

Introduction

Familial amyloidosis with polyneuropathy (FAP) type I [1] is an autosomal dominant disorder caused by a mutation in the transthyretin (TTR) gene located in chromosome 18. A single point mutation leads to the production of a mutant transthyretin with a substitution of valine for methionine at position 30, TTR V30M [2,3]. So far, about 120 different single or double points mutations or deletions have been reported, and several different phenotypes of ATTR amyloidosis have been documented [4]. Among these, substitution of valine by methionine at position 30 is the most frequent and widely disseminated mutation [5,6] associated with a progressive systemic disease usually fatal within a mean of 15 years after onset. First symptoms usually occur during the third decade of life with development of a progressive sensorimotor and autonomic neuropathy and involvement of several other organs [7,8]. Ocular involvement is a prominent feature of the familial amyloidosis (FAP) [9] and is related to amyloid deposition within ocular tissues, predominantly in the vitreous body, conjunctivae, trabecular meshwork and anterior capsule of the lens.

Liver transplantation is the only current treatment that alters the natural history of disease and has become a well-established treatment. However, since the endocular production of mutant TTR is not suppressed by liver transplantation [10–13], the prevalence of ocular complications tends to increase with the increased survival of patients. The endocular mutant TTR leads to amyloid deposition including in the anterior lens capsule. Often this deposition is asymmetric between the two eyes of the same patient.

Earlier presbyopia in liver transplanted FAP patients due to the deposition of amyloid on the anterior capsule of the lens was already described [14]. The authors noticed that some

Correspondence: Melo Beirão, Serviço de Oftalmologia, Hospital de Santo António Largo Prof. Abel Salazar, 2, 4099-001 Porto, Portugal.
Fax: + 351 226 066 106. E-mail: bbeirao@iol.pt

(Accepted July 2012)

patients reported complaints of alterations of vision despite visual acuity of 20/20 Snellen chart and decided to evaluate spatial contrast sensitivity in these patients.

Visual acuity, determined by using a maximum contrast test object, fails to provide information on how an object of poor contrast is viewed [15,16]. Some FAP patients with good visual acuity complain of poor quality of vision in both photopic and mesopic conditions. In the last few years, there has been increased interest in its qualitative interpretation besides the traditional quantitative visual acuity assessment [17,18]. Unlike visual acuity [19], there are no standards for contrast sensitivity testing, which can significantly affect results [20]. Tests have also been shown to have reliability and sensitivity, making their results difficult to compare [21] and there is still no consensus on the most useful method for determining contrast sensitivity [22].

Given the lack of information regarding the effects of the opacification of the anterior capsule of the lens on the contrast sensitivity in FAP patients with good visual acuity, we have studied and compared the contrast sensitivity in eyes of patients with normal visual acuity by Snellen chart, with and without visible opacification of the anterior capsule of the lens.

Patients and methods

Twenty-five FAP liver transplanted patients aged 36–47 (45.0 ± 5.3) years and 14 (56%) women/11 (44%) men were recruited sequentially during a routine ophthalmic examination. They presented a mean duration of clinical symptoms duration of 11.2 ± 3.9 years and have an average post liver transplant time of 9.0 ± 2.5 years. Twenty-two patients were receiving calcineurin inhibitors (19, cyclosporin, 3, tacrolimus) and the other three were receiving mycophenolate mofetil. All patients were evaluated by the same senior ophthalmologist immediately before vision testing, in the same room with the same ophthalmological equipment. Ocular examination included biomicroscopy, intraocular pressure measurement and dilated ocular fundus examination. The inclusion criteria were the presence of visible amyloid deposition on the anterior capsule of the lens in one eye with absence in the other eye and the presence of best corrected visual acuity of 20/20 at the Snellen chart bilaterally. Exclusion criteria were previous ocular surgery, visible punctate epithelial keratopathy, intraocular pressure greater than 21 mm Hg or previous diagnosis of glaucoma, any visible vitreous or retinal pathology, amblyopia, spheric or astigmatic refractive errors more than two diopters, central nervous system impairment or current treatment with any topical medication except artificial tears. The study sample comprised 50 eyes of 25 patients. The guidelines of the Declaration of Helsinki were followed and the applied procedures were approved by the Ethics Committee of Hospital Santo Antonio, Porto. All subjects gave their informed consent to participate in the study.

For comparison analysis, two groups of eyes were created based on the existence of visible opacification of the anterior capsule of the lens: Group I – visible opacification and Group II – no visible opacification of the anterior capsule of the lens.

The best corrected visual acuity (BCVA) was measure at the same Snellen chart and lacrimal function was evaluated using the Schirmer test and the tear break-up time (TBUT).

Schirmer test to determine the aqueous tears flow used the same type of paper strip (Schirmer-Plus manuf. by DINA-HITEX) placed in all patients eyes without anesthesia and with eyes closed during 5 min [23] and removed after that. The amount of wetting was measured in millimeters to determine the Schirmer test value. The normal value is 15 mm wetting, as described by Schirmer [24] and confirmed in our clinical practice.

Noninvasive fluorescein TBUT was used to evaluate the tear film instability. Its accuracy is good and may be more repeatable than other tests [25]. A drop of Fluotest® (fluorescein 2.5 mg/dl + oxybuprocaine hydrochloride 0.4%, ALCON Portugal) was applied into the inferior palpebral conjunctiva. The tear film was evaluated by slit lamp biomicroscope with cobalt blue filter and the elapsed time before the formation of dry spots or rupture of the tear film was recorded.

The METROVISION contrast sensitivity test was used to generate a range of gratings at six different spatial frequencies to determine the contrast sensitivity function. A computer system was used to generate variable black and white contrast sine wave gratings on a high-definition color monitor. Stimulation field was 10 degrees horizontal – 7.5 degrees vertical. The tested spatial frequencies (cycles per degree – cpd) were 0.8, 1.6, 3.2, 6.4, 12.8 and 25.6 cpd. The equipment reference values for each frequency were: 13.5 ± 4.5 dB (0.8 cpd), 19.0 ± 4.0 dB (1.6 cpd), 23.5 ± 3.5 dB (3.2 cpd), 23.5 ± 3.5 dB (6.4 cpd), 19.5 ± 3.5 dB (12.8 cpd) and 13.5 ± 4.5 dB (25.6 cpd). The equipment was regularly calibrated, the average luminance was 80 cd/m^2 and the examination distance was 100 cm. The test was always performed in the same dark room and patients using their refractive error, after 15 min of dark adaptation and one eye at a time. Five measurements were performed for each spatial frequency and the result was the arithmetic mean of five measures.

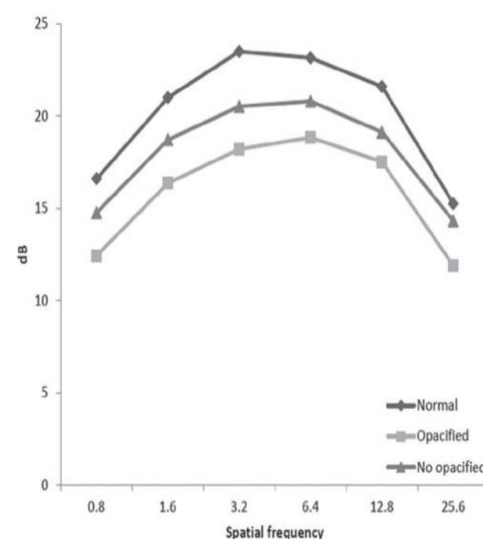


Figure 1. Relation between decibels (dB) and spatial frequencies. Group I – opacified; Group II – no opacified; normal – equipment reference values.

Table I. The relation between decibels (dB) and spatial frequencies (cpd).

	Spatial frequencies (cpd)					
	0.6	1.6	3.2	6.4	12.8	25.6
Group I	12.44 ± 1.61 dB	16.36 ± 1.75 dB	18.20 ± 1.91 dB	18.84 ± 1.60 dB	15.72 ± 1.92 dB	11.88 ± 1.83 dB
<i>P</i> value ^a	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Group II	14.76 ± 1.45 dB	18.72 ± 1.14 dB	20.52 ± 1.33 dB	20.80 ± 1.08 dB	19.12 ± 1.62 dB	14.32 ± 1.97 dB
<i>P</i> value ^b	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Reference Values	13.5 ± 4.5 dB	19.0 ± 4.0 dB	23.5 ± 3.5 dB	23.5 ± 3.5 dB	19.5 ± 3.5 dB	13.5 ± 4.5 dB
<i>P</i> value ^c	0.013	0.23	<0.001	<0.001	0.23	0.049

^aComparative group I and group II.

^bComparative group I and reference values.

^cComparative group II and reference values.

Statistical analysis

Comparison analysis was made between each study group and normal (equipment reference values) and between the two study groups. The statistical analysis was performed with statistical program PASW statistics 18. Data is expressed as mean ± standard deviation. Comparisons were made through the paired Student *t*-test or *t*-test for one sample. Differences were considered statistically significant at *P* < 0.05.

Results

No significant differences in lacrimal function were observed between eyes of Group I and Group II. The mean Schirmer test was 10.16 ± 3.65 mm in Group I vs 10.20 ± 3.73 mm in Group II, *P* = 0.83. The mean TBUT was 3.93 ± 1.87 s in Group I vs 3.96 ± 1.9 s in Group II, *P* = 0.43.

The relation between decibels (dB) and spatial frequencies is shown in Figure 1. The mean values in decibels of each group for each spatial frequency as well as the comparison analysis between the two groups and the reference values are summarized in Table I. Significant differences were observed for all tested frequencies between eyes with visible opacification of the anterior capsule of the lens (Group I) and no visible opacification of the anterior capsule of the lens (Group II). Similar results were obtained comparing each group with reference values except between eyes with no visible opacification of the anterior capsule of the lens and reference values for the frequencies of 1.6 and 12.8 cpd.

Discussion

Spatial contrast is a physical dimension referring to the light-dark transition of a border or an edge in an image that delineates the existence of a pattern or an object. Contrast sensitivity refers to a measure of how much contrast a person requires to see a target. Contrast sensitivity measurements differ from acuity measurements; acuity is a measure of the spatial-resolving ability of the visual system under conditions of very high contrast, whereas contrast sensitivity is a measure of the threshold contrast for seeing a target [26]. High spatial frequencies are reported to be involved in visual performance in daily life such as face recognition [27–29].

Any irregularity in the ocular media can reduce contrast sensitivity and contribute to disability glare [30]. Dry eye is a cause of decreased visual acuity and spatial contrast sensitivity, which significantly improves after applying artificial tears

[31–35]. In our study, the differences in lacrimal function, measured by Schirmer test and TBUT, were not statistically significant between Group I the Group II, but slightly lower than the normal limits described by Schirmer who reported a normal cut off value of the Schirmer test of 15 mm wetting in 5 min without topical anesthesia [24]. The similar results in lacrimal function in both groups suggest that the difference in contrast sensitivity between the two groups could not be attributed to modification of optical properties of corneal surface associated with alteration of the lacrimal function, frequent in FAP patients.

Our results confirm that contrast sensitivity could be significantly impaired in patients with FAP who have minimally reduced visual acuity. A global worsening of contrast sensitivity was observed at almost all spatial frequencies independently of the presence of visible anterior capsule opacification. The lower contrast sensitivity in Group II, eyes without visible anterior capsule opacification, can be assigned by the dry eye alterations of media, but possibly also can be due to subclinical deposition of amyloid in the anterior lens capsule or at the vitreous. No significant difference from normal was observed in group II in two of the six frequencies tested probably to the small number of eyes studied.

In presence of visible anterior capsule opacification, the contrast sensitivity significantly worsened suggesting that the deposition of amyloid in the anterior capsule of the lens promotes a significant decrease in contrast sensitivity at all spatial frequencies, high, intermediate and low. This can be explained by amyloid deposits which cause light scattering and consequent degradation of the image on the retina.

Spatial contrast sensitivity is affected by dry eye disease worsening, by opacity of the anterior lens capsule, possibly by amyloid deposition in the vitreous and, therefore, it can be used to follow the ophthalmic disease in FAP patients.

Conclusion

The eyes of FAP patients have reduced contrast sensitivity in four of the six tested spatial frequencies. This decrease is significantly more pronounced in eyes with opacification of the anterior lens capsule, in accordance with many of the deteriorated quality of vision complaints of these patients even in presence of excellent visual acuity in Snellen charts test.

Declaration of Interest: The authors have no conflicts of interest to declare.

References

- Andrade C. A peculiar form of peripheral neuropathy; familial atypical generalized amyloidosis with special involvement of the peripheral nerves. *Brain* 1952;75:408–427.
- Murakami T, Uchino M, Ando M. Genetic abnormalities and pathogenesis of familial amyloidotic polyneuropathy. *Pathol Int* 1995;45:1–9.
- Saraiva MJ. Recent advances in the molecular pathology of familial amyloid polyneuropathy. *Neuromuscul Disord* 1991;1:3–6.
- Ando Y, Ueda M. Diagnosis and therapeutic approaches to transthyretin amyloidosis. *Curr Med Chem* 2012;19:2312–2323.
- Sousa A, Coelho T, Barros J, Sequeiros J. Genetic epidemiology of familial amyloidotic polyneuropathy (FAP)-type I in Póvoa do Varzim and Vila do Conde (north of Portugal). *Am J Med Genet* 1995;60:512–521.
- Palácios SA, Bittencourt PL, Cançado EL, Farias AQ, Massarollo PC, Mies S, Kalil J, Goldberg AC. Familial amyloidotic polyneuropathy type I in Brazil is associated with the transthyretin Val30Met variant. *Amyloid* 1999;6:289–291.
- Coutinho P, Martin da Silva A, Lopes Lima J, Resende Barbosa A. Forty years of experience with type I amyloid neuropathy. Review of 483 cases. In: Glenner GG, Pe CP, Falcao De Freitas A, editors. *Amyloid and amyloidosis*. Amsterdam: Excerpta Medica; 1980. pp 88–98.
- Andersson R. Familial amyloidosis with polyneuropathy: a clinical study based on patients living in northern Sweden. *Acta Med Scand* 1976;198:1–64.
- Sandgren O. Ocular amyloidosis, with special reference to the hereditary forms with vitreous involvement. *Surv Ophthalmol* 1995;40:173–196.
- Duke JR, Paton D. Primary familial amyloidosis: ocular manifestations with histopathologic observations. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1965;63:146–167.
- Knowles DM 2nd, Jakobiec FA, Rosen M, Howard G. Amyloidosis of the orbit and adnexae. *Surv Ophthalmol* 1975;19:367–384.
- Lessell S, Wolf PA, Benson MD, Cohen AS. Scalloped pupils in familial amyloidosis. *N Engl J Med* 1975;293:914–915.
- Sandgren O, Kjellgren D, Suhr OB. Ocular manifestations in liver transplant recipients with familial amyloid polyneuropathy. *Acta Ophthalmol* 2008;86:520–524.
- Beirão M, Matos E, Beirão I, Costa PP, Torres P. Anticipation of presbyopia in Portuguese familial amyloidosis ATTR V30M. *Amyloid* 2011;18:92–97.
- Owsley C, Sloane ME. Contrast sensitivity, acuity, and the perception of 'real-world' targets. *Br J Ophthalmol* 1987;71:791–796.
- Jindra LE, Zemon V. Contrast sensitivity testing: a more complete assessment of vision. *J Cataract Refract Surg* 1989;15:141–148.
- Holladay JT, Dudeja DR, Chang J. Functional vision and corneal changes after laser *in situ* keratomileusis determined by contrast sensitivity, glare testing, and corneal topography. *J Cataract Refract Surg* 1999;25:663–669.
- McLeod SD. Beyond snellen acuity: the assessment of visual function after refractive surgery. *Arch Ophthalmol* 2001;119:1371–1373.
- Recommended standard procedures for the clinical measurement and specification of visual acuity. Report of working group 39. Committee on vision. Assembly of Behavioral and Social Sciences, National Research Council, National Academy of Sciences, Washington, D.C. *Adv Ophthalmol* 1980;41:103–148.
- Ginsburg AP, Cannon MW. Comparison of three methods for rapid determination of threshold contrast sensitivity. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1983;24:798–802.
- Rubin GS, Adamsons IA, Stark WJ. Comparison of acuity, contrast sensitivity, and disability glare before and after cataract surgery. *Arch Ophthalmol* 1993;111:56–61.
- Tan JC, Spalton DJ, Arden GB. The effect of neodymium: YAG capsulotomy on contrast sensitivity and the evaluation of methods for its assessment. *Ophthalmology* 1999;106:703–709.
- Serin D, Karsloglu S, Kyan A, Alagöz G. A simple approach to the repeatability of the schirmer test without anesthesia: eyes open or closed? *Cornea* 2007;26:903–906.
- Schirmer O. Studies on the physiology and pathology of lacrimal secretion. *Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol* 1903;56:197–291.
- Perry HD. Dry eye disease: pathophysiology, classification, and diagnosis. *Am J Manag Care* 2008;14:S79–S87.
- Owsley C. Contrast sensitivity. *Ophthalmol Clin North Am* 2003;16:171–177.
- Oh JY, Wee WR. The effect of pterygium surgery on contrast sensitivity and corneal topographic changes. *Clin Ophthalmol* 2010;4:315–319.
- Montés-Micó R, Charman WN. Choice of spatial frequency for contrast sensitivity evaluation after corneal refractive surgery. *J Refract Surg* 2001;17:646–651.
- Ojanpää H, Näsänen R. Utilisation of spatial frequency information in face search. *Vision Res* 2003;43:2505–2515.
- Paulsson LE, Sjöstrand J. Contrast sensitivity in the presence of a glare light. Theoretical concepts and preliminary clinical studies. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1980;19:401–406.
- Akin T, Karadayi K, Aykan U, Certel I, Bilge AH. The effects of artificial tear application on contrast sensitivity in dry and normal eyes. *Eur J Ophthalmol* 2006;16:785–790.
- Puell MC, Benítez-del-Castillo JM, Martínez-de-la-Casa J, Sánchez-Ramos C, Vico E, Pérez-Carrasco MJ, Pedraza C, del-Hierro A. Contrast sensitivity and disability glare in patients with dry eye. *Acta Ophthalmol Scand* 2006;84:527–531.
- Rieger G. Contrast sensitivity in patients with keratoconjunctivitis sicca before and after artificial tear application. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1993;231:577–579.
- Rolando M, Iester M, Macri A, Calabria G. Low spatial-contrast sensitivity in dry eyes. *Cornea* 1998;17:376–379.
- Huang FC, Tseng SH, Shih MH, Chen FK. Effect of artificial tears on corneal surface regularity, contrast sensitivity, and glare disability in dry eyes. *Ophthalmology* 2002;109:1934–1940.

Introdução

Descrição das alterações oftalmológicas da PAF na população portuguesa

Impacto do transplante hepático na oculopatia

Descrição de outras alterações: Presbiopia e Sensibilidade ao Contraste

V → Eritropoietina e neuroproteção no glaucoma

Terapêutica da oculopatia da PAF

Alterações oculares de recetores de fígado PAF e risco de oculopatia

Discussão

Conclusões

Perspetivas futuras

V → Eritropoietina e neuroprotecção no glaucoma

Beirão J, Moreira L, Oliveira J, Meneres MJ, Pessoa B, Matos E, Costa P, Torres P, Beirão I. Aqueous humor erythropoietin levels in open angle glaucoma patients with and without TTR V30M Familial Amyloid Polyneuropathy. *Molecular Vision* (in press)

RESUMO

A produção inapropriada de eritropoietina (EPO) sérica na PAF foi descrita. O déficit de eritropoietina pode ocorrer independentemente da doença renal e pode mesmo preceder a anemia e os sintomas da doença. A eritropoietina é uma citocina que demonstrou ter, além de um papel regulador da eritropoiese, funções de neuroproteção. Além do rim, a eritropoietina pode ser produzida noutros locais entre os quais, o olho onde a EPO é produzida pelas células do epitélio pigmentar da retina. Os níveis de EPO no humor aquoso encontram-se aumentados nos olhos com glaucoma e pensa-se que este aumento tem como função a neuroproteção.

O glaucoma é uma causa importante de perda irreversível de visão nos doentes PAF e importa saber se os mecanismos de neuroprotecção também estão presentes nestes doentes. Para tal propusemo-nos avaliar a concentração de EPO no humor aquoso de doentes PAF, com e sem glaucoma, e compara-los com os níveis observados em doentes não PAF com glaucoma e doentes não PAF sem glaucoma.

Foram obtidas amostras de humor aquoso não diluído de 42 olhos submetidos a cirurgia de glaucoma, a cirurgia de catarata por facoemulsificação ou vitrectomia. A concentração de EPO no humor aquoso e no soro foi medida com o *Immulite 2000 Xpi automatic analyser* (Siemens Healthcare Diagnostics).

Foi demonstrado, que o humor aquoso de doentes não PAF com glaucoma apresentava concentração significativamente mais elevada de EPO do que os olhos de doentes não PAF sem glaucoma ($75,73 \pm 13,25$ mU/mL versus $17,22 \pm 5,33$ mU/mL). Nos doentes PAF, a concentração de EPO não aumentava na presença de glaucoma ($18,82 \pm 10,16$ mU/mL versus $20,62 \pm 6,22$ mU/mL). Não foi encontrada correlação entre a concentração sérica de EPO e a concentração de EPO no humor aquoso.

Podemos assim concluir, que os doentes PAF com glaucoma não apresentavam o aumento esperado de EPO no humor aquoso e portanto têm uma menor neuroprotecção endocular potencial, o que pode contribuir para a maior agressividade do glaucoma nestes doentes.

Aqueous humor erythropoietin levels in open angle
glaucoma patients with and without TTR V30M
Familial Amyloid Polyneuropathy

João M Beirão, MD^{1,2,3}, Luciana M Moreira, Msc^{3,4}, João C Oliveira, MD⁵,
Maria J Meneres, MD^{1,3}, Benardete B Pessoa, MD¹, Maria E Matos, MSc³,
Paulo P Costa, MD, PhD^{3,4}, Paulo A Torres, MD, PhD^{1,3}, Idalina B Beirão, MD,
PhD^{2,3}

1. Ophthalmology, Hospital de Santo António, Porto

2. Unidade Clínica de Paramiloidose, Hospital de Santo António, Porto

3. UMIB, ICBAS, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Porto

4. INSA Dr. Ricardo Jorge, Porto

5. Biochemistry Service, Hospital Santo António, Porto

Running title: Aqueous humor erythropoietin in FAP-related glaucoma

Corresponding author:

Melo Beirão

Serviço de Oftalmologia, Hospital de Santo António

Largo Prof. Abel Salazar, 2

4099-001 Porto, Portugal

Faxmile: + 351 22 606 61 06

e-mail: bbeirao@iol.pt

Disclosure: There are no conflicts of interest to declare.

Key Words: Erythropoietin, Glaucoma, Amyloid, ATTRV30M, Familial Amyloidotic Polyneuropathy

Summary Statement: Glaucoma is a serious complication in TTR V30M related Familial Amyloid Polyneuropathy, even after liver transplantation. It is difficult to control, and may lead to blindness. A neuroprotective increase in Erythropoietin (EPO) levels in the aqueous humor is seen in most glaucoma patients. However, in this work we demonstrate that FAP patients do not mount an appropriate EPO response to glaucoma, and may need a more aggressive glaucoma management.

Abstract:

Purpose: Glaucoma is the leading cause of irreversible blindness in Familial Amyloidotic Polyneuropathy (FAP) patients. Erythropoietin (EPO) is a cytokine that has been shown to play a role in neuroprotection, and is endogenously produced in the eye. EPO levels in the aqueous humor are increased in eyes with glaucoma. In this study, we evaluated the EPO concentration in the aqueous humor of FAP and non-FAP patients, with and without glaucoma.

Methods: Undiluted aqueous humor samples were obtained from 42 eyes that underwent glaucoma surgery, phacoemulsification or vitrectomy. EPO concentration in the aqueous humor and blood were measured using the Immulite 2000 Xpi automatic analyser (Siemens Healthcare Diagnostics).

Results: The mean EPO concentration in the aqueous humor of non-FAP glaucoma eyes Group 2 (75.73 ± 13.25 mU/mL) was significantly higher than non-FAP cataract eyes (17.22 ± 5.33 mU/mL) $P < 0.001$, FAP glaucoma eyes (18.82 ± 10.16 mU/mL) $P < 0.001$ and FAP non-glaucoma eyes (20.62 ± 6.22 mU/mL) $P < 0.001$. There was no statistically significant difference between FAP non-glaucoma eyes versus non-FAP cataract eyes ($P = 0.23$) and FAP glaucoma eyes versus FAP non-glaucoma eyes ($P = 0.29$). In the glaucoma Groups, there was no correlation between the aqueous humor EPO concentration and the ocular pressure ($P = 0.95$), and the mean deviation ($P = 0.41$). There was no correlation between the EPO serum concentration and EPO aqueous humor concentration in our patients ($P = 0.77$).

Conclusions: Unlike other glaucomatous patients, FAP patients with glaucoma do not show increased and potentially neuroprotective endocular EPO production in the aqueous humor, and may need more aggressive glaucoma management.

Introduction:

Glaucoma is a progressive optic nerve neuropathy and the major cause of preventable and irreversible blindness worldwide. It is characterized by visual field defects and nerve head cupping due to the loss of retinal ganglion cells [1]. Despite its multifactorial genesis [2-4], the major risk factor for glaucoma progression is the elevated intraocular pressure [5-6], which compresses the retinal ganglion cells at the optic nerve head [7]. The only treatment that slows glaucoma progression involves lowering the intraocular pressure [8].

Familial Amyloid Polyneuropathy (FAP) is caused by the extracellular deposition of amyloid fibrils of mutant transthyretin TTR V30M in various tissues and organs [9-11]. TTR V30M mutation is the most common form of ATTR variant in Portugal, as well as in the world [12]. The main clinical expression of FAP disease is a sensorimotor and autonomic neuropathy, but other manifestations, such as nephropathy, hematologic and ocular abnormalities can occur. Among the reported ocular FAP complications [13-15], glaucoma is the major cause of irreversible vision loss, and is often difficult to control [16].

Erythropoietin was identified as a hematopoietic cytokine, which promotes proerythroblast survival and maturation [17]. Recently, it was recognized as a member of the cytokine type 1 superfamily with multiple functions outside the

bone marrow [18]. It provides direct protection against hypoxia by its antiapoptotic, antioxidative and anti-inflammatory properties, and for its angiogenic capacity that allows the oxygen supply to ischemic tissues. Several studies have found that EPO protects photoreceptor cells, retinal ganglion cells and retinal pigment epithelial cells from apoptosis [19-26]. *Hernandez et al.* [27] suggested that EPO is produced locally in the retina. Muller cells and retinal pigment epithelium were pointed by *Fu et al.* [28] and *Garcia-Ramírez et al.* [29], respectively, as the cells responsible for EPO production in the eye.

Previous studies have shown a significantly increased EPO concentration in the aqueous humor of eyes with glaucoma [30-32], probably as a defense mechanism against glaucomatous damage [33] caused by hypoxia, ischemia, oxidative stress, and reduced pro-inflammatory cytokine production [34-39]. It has been suggested that, although hypoxia / ischemia is the major stimulus for endocular and systemic EPO production [21,40-43], other incompletely understood factor may be involved [27, 29].

FAP patients, and even pre-symptomatic carriers, have an inappropriately low EPO production [44]. *In vitro* studies suggest that, the dissociated mutant TTR polymerizes into misfolding amyloidogenic intermediates, protofilaments and non-fibrillar aggregates of TTR, rather than mature amyloid fibrils, may induce cellular toxicity [45, 46]. We propose that these amyloid precursors may be toxic to EPO producing cells.

This study was performed in order to evaluate the ocular EPO response in FAP patients with glaucoma.

Methods:

A prospective non-randomized comparative study was conducted from January 2008 to December 2011 at the Ophthalmic and Clinical Chemistry Departments from Centro Hospitalar do Porto.

Written informed consent was obtained from all patients. This study was carried out in accordance with the Declaration of Helsinki of the World Medical Association and was approved by Ethics Committee of the Centro Hospitalar do Porto.

Pre-surgical assessment included Snellen best corrected visual acuity (Snellen chart, Takagi chart projector CP-30, calibrated for approximately 6 meters), slit-lamp biomicroscopy, IOP measurement by Goldman applanation tonometry (same person with AT-900 Haag-Streit, Koniz, Switzerland), funduscopy (90D non contact slit lamp lens Volk Optical, Mentor, USA), Humphrey perimetry (Humphrey Field Analyser – Humphrey Instruments, San Leandro, CA) and cup/disc ratio. All examinations were performed within the last two weeks before the surgical procedure.

Exclusion criteria for all groups were: previous laser and/or intraocular surgery; history of systemic (e.g. diabetes mellitus, kidney disease, cardiovascular disorders, anemia, immune disease, except FAP in the Group 1 and 3) or any ocular disorders (e.g. age-related macular degeneration), history of medications that could influence the level of EPO (e.g. iron preparations, chemotherapeutic agents, granulocyte colony-stimulating factor, or systemic therapy with EPO) and patients with any type of glaucoma except open angle glaucoma, such as

angle-closure, pigmented, exfoliation, normotensive and neovascular glaucomas, or ocular hypertension.

To clarify the relationship between aqueous EPO production and circulating blood EPO levels, we compared the aqueous and serum concentrations of EPO. Aqueous humor samples were obtained from each eye prior to the beginning of surgery (trabeculectomy, phaco-emulsification or vitrectomy). The standard procedure involved collecting undiluted aqueous humor samples (50 to 150 μ L) through a paracentesis using a 30-gauge needle on a tuberculin syringe under an operating microscope. Samples were obtained carefully to avoid touching intraocular tissues or blood contamination. All samples were carefully protected from light and were sent immediately to the laboratory for EPO measurement. At the same time, 9 ml of venous blood samples were collected.

Serum samples were obtained from the centrifugation of the blood sample. The samples of aqueous humor and serum had the same processing routine analysis. Serum and aqueous humor erythropoietin concentration was measured by a chemiluminescent method in automatic Xpi Immulite 2000 analyzer (Siemens Healthcare Diagnostics, Siemens AG, Germany).

Statistical Analysis: The statistical analysis was carried out by nonparametric tests. Kruskal-Wallis test was performed to compare the groups in relation to age and the Chi-squared in relation to gender. The Mann-Whitney *U* test was used to compare the non-glaucoma, glaucoma and the FAP groups in relation to aqueous humor EPO and serum EPO level. The relation between EPO and serum was evaluated by Spearman correlation. Values of *P* less than 0.05 were

considered statistically significant. Data analysis was performed by SPSS software version 20.

Results

A total of 21 glaucomatous eyes from 21 patients and 21 control eyes (21 patients) were enrolled in the study. The demographic characteristics of the patients are summarized in Table 1. In the glaucoma eyes, 10 were from FAP patients (Group 1 – mean age 55.4 ± 10.0 years; 5 females) and 11 were from non-FAP patients (Group 2 – mean age 55.8 ± 7.0 years; 4 females). Of the 21 control eyes, 9 were from FAP patients with an indication for vitrectomy due to amyloid deposition (Group 3 – 55.9 ± 8.5 years; 4 females) and 12 were from non-FAP patients awaiting phacoemulsification and intraocular lens implantation (Group 4 – 58.8 ± 4.9 years; 5 females). Groups 1 and 2 presented indications for trabeculectomy, had uncontrolled IOP (defined as IOP higher than the target pressure with maximally topical anti-glaucoma medications – prostaglandin + beta blocker + anhydrase carbonic inhibitor + alpha-2 agonist), abnormal visual field test results and abnormal cup/disc ratio.

The ages and gender distribution of the patients were similar between groups (Kruskal Wallis test, $P = 0.56$; chi-square test, $P = 0.94$). All FAP patients had received an orthotopic liver transplant.

As summarized in Table 2, the mean EPO concentration in the aqueous humor of non-glaucomatous eyes (Group 3 versus Group 4) was not significantly different between FAP and non-FAP patients (20.62 ± 6.22 mU/mL in Group 3 and 17.22 ± 5.33 mU/mL in Group 4, $P=0.23$) and corresponds presumably to

the basal ocular production of EPO. In the presence of glaucoma, EPO concentrations in the aqueous humor showed a significant increase in non-FAP group (Group 2: 75.73 ± 13.25 mU/mL; Group 1: 18.82 ± 10.16 mU/mL; $P < 0.001$) and when we compared the non-FAP glaucoma group (group 2) with the non-glaucoma groups (FAP Group 3 and non-FAP Group 4) a similar found was observed $P < 0.001$ (Table 2). In the FAP groups (Group 1 and Group 3), we observed no significant difference between the mean EPO values of patients with or without uncontrolled glaucoma ($P = 0.29$). As illustrated in Table 3, FAP patients with glaucoma (Group 1) and non FAP patients with glaucoma (Group 2) were comparable in terms of the intraocular pressure ($P = 0.39$) and the mean deviation ($P = 0.75$). The correlation between the ocular pressure (IOP) and the aqueous humor EPO is not significant in Group 1 (mean IOP 26.20 ± 1.93 mmHg) ($r_s = 0.02$ $P = 0.95$) and Group 2 (mean IOP 26.82 ± 1.72 mmHg) ($r_s = 0.27$ $P = 0.41$). It is also not significant correlation between the mean deviation and the aqueous humor EPO in Group 1 ($r_s = -0.48$ $P = 0.16$) and Group 2 ($r_s = -0.07$ $P = 0.83$).

Serum EPO levels among patient groups were not significantly different, when multiple testing was taken into account (Bonferroni correction). No statistically significant correlation between the values of EPO in the serum and in the aqueous humor was observed for the patients of all groups (Spearman correlation coefficient $r = 0.047$ $P = 0.77$).

Discussion

Glaucoma is a manifestation of a very heterogeneous group of diseases, with a very complex and multifactorial pathophysiology [8]. Although hypotensive therapy is today the only possible therapeutic intervention, neuroprotective treatment strategies are emerging as a result of the advances in the comprehension of the pathophysiological mechanisms of glaucoma. In the future, neuroprotective agents will probably be part of the therapeutic arsenal available for the treatment of glaucoma. EPO has been shown to have a protective effect on ganglion cells against acute ischemia injury [47,28], and has been proposed as a potential neuroprotective treatment.

This study confirmed that aqueous humor EPO level is higher in glaucomatous eyes than in non-glaucomatous eyes with cataracts, as previously reported [30-32, 48, 49]. This increase in aqueous humor EPO levels could be a result of local production and/or active transport through the blood-ocular barrier. This observation lends support to the hypothesis that EPO acts as an endogenous neuroprotector of retinal ganglion cells [19].

In spite of the inappropriately low renal EPO production reported in FAP ATTR V30M [44], its basal level in the aqueous humor of FAP patients is not significantly altered. However, FAP patients seem to be unable to increase endocular EPO production in the presence of glaucoma. In previous studies, we have shown an inappropriate secretion of renal EPO in FAP and an inability to increase EPO production in response to decreased serum hemoglobin levels, leading to a high incidence of anemia in these patients. The lack of response to glaucoma in FAP patients could be the ocular counterpart of the stunted renal EPO production in FAP in response to anemia.

It has been suggested that inhibition of EPO production could be caused by the toxicity of prefibrillar aggregates of TTR V30M [50,44,51]. These oligomers induce the expression of oxidative stress, pro-inflammatory cytokines and apoptosis related molecules [52, 53], through the binding of TTR aggregates to the receptor for advanced glycation end-products (RAGE), activation of extracellular signal-regulated kinase (ERK) cascades and nuclear transcription factor κ B (NF- κ B) [52-56] suppressing the EPO production. All our FAP patients had previously received an orthotopic liver transplant to eliminate their main source of mutant TTR, their own liver [57]. After liver transplantation, the mutant TTR is removed from systemic circulation. However, its local production in the eye remains presumably unaffected. Therefore, the ocular pathology related to FAP, which includes glaucoma, continues to progress after liver transplantation. Presumably, there is also continuing deposition of cytotoxic prefibrillar TTR aggregates.

Garcia-Ramirez found that other factors besides HIF mediated hypoxia might be important in the upregulation of EPO. Hypoxia, ischemia, elevated reactive oxygen species, or increases in glutamate and nitric oxide caused by glaucomatous damage are probably the cause of elevated aqueous humor EPO concentration in chronic glaucoma [30]. The pro-inflammatory cytokines IL-1, IL-6, interferon- γ and TNF- α inhibit EPO production [58,59], but despite being increased in the aqueous humor of glaucoma eyes, as is especially the case for TNF- α [60], do not prevent the increase in EPO levels.

Increased levels of TTR in the aqueous humor of glaucoma patients have been documented [61-63]. If glaucoma leads to an increase expression of TTR in the aqueous humor, an increased concentration of the unstable TTR V30M in FAP

patients' eyes could contribute to increase the development of a mechanical barrier to the outflow of aqueous humor [64] and consequent worsening the glaucoma. The association of open angle glaucoma with autonomic nervous system dysfunction suggests that this could also play a role in the pathogenesis of the disease [65]. Patients with systemic sympathetic and parasympathetic neuropathies have a higher incidence of open-angle and normal-pressure glaucoma [66-69]. Because FAP patients have an early onset neuropathy with markedly autonomic involvement, it is likely that autonomic dysfunction plays a role in glaucoma pathophysiology. Other possible contributing factors are the hemodynamic instability often presented in FAP patients due to vascular deregulation and abnormal blood pressure that may compound the harmful effects of glaucoma, particularly during sleep [65].

In the groups with glaucoma there was no correlation between the aqueous humor EPO concentration and the values of intraocular pressure and mean deviation. It seems that the concentration of EPO in the aqueous humor is not related with the increase of intraocular pressure with or previous eye injury caused by glaucoma.

In this study, patients with pseudoexfoliative and uveitic glaucomas were excluded because some studies pointed to blood-aqueous humor barrier breakdown in these situations [70,71]. EPO can cross the blood brain barrier and blood retina barrier [41]. We have not found significant correlation between aqueous humor and serum EPO concentrations like other authors [30,31]. The elevation of aqueous humor EPO level in glaucoma is not associated with a parallel increase in blood EPO levels, corroborating the role of local EPO production, as already proposed by Fu [28] and Garcia-Ramirez [29].

In conclusion, our study confirms that the level of EPO is increased in aqueous humor of open angle glaucomatous eyes, as found by other authors. This increase is not observed in FAP patients. With the increased survival of transplanted FAP patients, is expected to increase dramatically the glaucoma prevalence with the increased duration of disease. This study showed lower endogenous neuroprotection in glaucomatous eyes of FAP patients, emphasizing the need for more aggressive glaucoma management, in order to maintain their vision throughout life.

References:

1. Agar A, Yip SS, Hill MA, Coroneo MT. Pressure related apoptosis in neuronal cell lines. *J Neurosci Res.* 2000 May 15; 60(4): 495-503.
2. Flammer J, Orgül S. Optic nerve blood-flow abnormalities in glaucoma. *Prog Retin Eye Res.* 1998 Apr; 17(2): 267-89.
3. Cioffi GA. Ischemic model of optic nerve injury. *Trans Am Ophthalmol Soc.* 2005; 103:592-613.
4. Tezel G, Wax MB Hypoxia-inducible factor 1alpha in the glaucomatous retina and optic nerve head. *Arch Ophthalmol.* 2004 Sep; 122(9): 1348-56.
5. Evans DW, Hosking SL, Gherghel D, Bartlett JD. Contrast sensitivity improves after brimonidine therapy in primary open angle glaucoma: a case for neuroprotection. *Br J Ophthalmol.* 2003 Dec; 87(12): 1463-5.
6. Gordon MO, Beiser JA, Brandt JD, Heuer DK, Higginbotham EJ, Johnson CA, Keltner JL, Miller JP, Parrish RK 2nd, Wilson MR, Kass MA. The Ocular Hypertension Treatment Study: baseline factors that predict the onset of primary open-angle glaucoma. *Arch Ophthalmol.* 2002 Jun; 120(6): 714-20.
7. Izzotti A, Bagnis A, Saccà SC The role of oxidative stress in glaucoma. *Mutat Res.* 2006 Mar; 612(2): 105-14.
8. Leske MC, Heijl A, Hussein M, Bengtsson B, Hyman L, Komaroff E. Early Manifest Glaucoma Trial Group. Factors for glaucoma progression and the effect of treatment: the early manifest glaucoma trial. *Arch Ophthalmol.* 2003 Jan; 121(1): 48-56.
9. Saraiva MJ, Costa PP, Goodman DS. Studies on plasma transthyretin (prealbumin) in familial amyloidotic polyneuropathy, Portuguese type. *J Lab Clin Med.* 1983 Oct; 102(4): 590-603.
10. Saraiva MJ, Costa PP, Birken S, Goodman DS. Presence of an abnormal transthyretin (prealbumin) in Portuguese patients with familial amyloidotic polyneuropathy. *Trans Assoc Am Physicians.* 1983; 96:261-70.
11. Saraiva MJ, Birken S, Costa PP, Goodman DS. Amyloid fibril protein in familial amyloidotic polyneuropathy, Portuguese type. Definition of molecular abnormality in transthyretin (prealbumin). *J Clin Invest.* 1984 Jul; 74(1): 104-19.
12. Ando Y, Araki S, Ando M. Transthyretin and familial amyloidotic polyneuropathy. *Intern Med.* 1993 Dec; 32(12): 920-2.
13. Ando E, Ando Y, Okamura R, Uchino M, Ando M, Negi A. Ocular manifestations of familial amyloidotic polyneuropathy type I: long-term follow up. *Br J Ophthalmol.* 1997 Apr; 81(4): 295-8.
14. Sandgren O, Kjellgren D, Suhr OB Ocular manifestations in liver transplant recipients with familial amyloid polyneuropathy. *Acta Ophthalmol.* 2008 Aug; 86(5): 520-4.

15. Beirão M, Matos E, Beirão I, Costa PP, Torres P. Anticipation of presbyopia in Portuguese familial amyloidosis ATTR V30M. *Amyloid*. 2011 Sep; 18(3): 92-7.
16. Kimura A, Ando E, Fukushima M, Koga T, Hirata A, Arimura K, Ando Y, Negi A, Tanihara H. Secondary glaucoma in patients with familial amyloidotic polyneuropathy. *Arch Ophthalmol*. 2003 Mar; 121(3):351-6.
17. Jelkmann W. Erythropoietin: structure, control of production, and function. *Physiol Rev*. 1992 Apr; 72(2): 449-89
18. Ghezzi P, Brines M. Erythropoietin as an antiapoptotic, tissue-protective cytokine. *Cell Death Differ*. 2004 Jul; 11 Suppl 1:S37-44
19. Becerra SP, Amaral J. Erythropoietin - an endogenous retinal survival factor. *N Engl J Med*. 2002 Dec 12; 347(24):1968-70
20. Dreixler JC, Hagevik S, Hemmert JW, Shaikh AR, Rosenbaum DM, Roth S. Involvement of erythropoietin in retinal ischemic preconditioning. *Anesthesiology*. 2009 Apr; 110(4): 774-80
21. Inomata Y, Hirata A, Takahashi E, Kawaji T, Fukushima M, Tanihara H. Elevated erythropoietin in vitreous with ischemic retinal diseases. *Neuroreport*. 2004 Apr 9; 15(5):877-9
22. Sakanaka M, Wen TC, Matsuda S, Masuda S, Morishita E, Nagao M, Sasaki R. In vivo evidence that erythropoietin protects neurons from ischemic damage. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998 Apr 14; 95(8): 4635-40.
23. Tsai JC, Song BJ, Wu L, Forbes M. Erythropoietin: a candidate neuroprotective agent in the treatment of glaucoma. *J Glaucoma*. 2007 Sep; 16(6): 567-71
24. Tsai JC, Wu L, Worgul B, Forbes M, Cao J. Intravitreal administration of erythropoietin and preservation of retinal ganglion cells in an experimental rat model of glaucoma. *Curr Eye Res*. 2005 Nov; 30(11): 1025-31.
25. Villa P, Bigini P, Mennini T, Agnello D, Laragione T, Cagnotto A, Viviani B, Marinovich M, Cerami A, Coleman TR, Brines M, Ghezzi P. Erythropoietin selectively attenuates cytokine production and inflammation in cerebral ischemia by targeting neuronal apoptosis. *J Exp Med*. 2003 Sep 15; 198(6): 971-5.
26. Wang ZY, Shen LJ, Tu L, Hu DN, Liu GY, Zhou ZL, Lin Y, Chen LH, Qu J. Erythropoietin protects retinal pigment epithelial cells from oxidative damage. *Free Radic Biol Med*. 2009 Apr 15; 46(8):1032-41.
27. Hernández C, Fonollosa A, García-Ramírez M, Higuera M, Catalán R, Miralles A, García-Arumí J, Simó R. Erythropoietin is expressed in the human retina and it is highly elevated in the vitreous fluid of patients with diabetic macular edema. *Diabetes Care*. 2006 Sep; 29(9):2028-33.
28. Fu QL, Wu W, Wang H, Li X, Lee VW, So KF. Up-regulated endogenous erythropoietin/erythropoietin receptor system and exogenous

- erythropoietin rescue retinal ganglion cells after chronic ocular hypertension. *Cell Mol Neurobiol*. 2008 Feb; 28(2): 317-29.
29. García-Ramírez M, Hernández C, Simó R. Expression of erythropoietin and its receptor in the human retina: a comparative study of diabetic and nondiabetic subjects. *Diabetes Care*. 2008 Jun; 31(6):1189-94.
30. Cumurcu T, Bulut Y, Demir HD, Yenisehirli G. Aqueous humor erythropoietin levels in patients with primary open-angle glaucoma. *J Glaucoma*. 2007 Dec; 16(8): 645-8.
31. Wang ZY, Zhao KK, Zhao PQ. Erythropoietin is increased in aqueous humor of glaucomatous eyes. *Curr Eye Res*. 2010 Aug; 35(8): 680-4.
32. Mokbel TH, Ghanem AA, Kishk H, Arafa LF, El-Baiomy AA. Erythropoietin and soluble CD44 levels in patients with primary open-angle glaucoma. *Clin Experiment Ophthalmol*. 2010 Aug; 38(6): 560-5.
33. Dirnagl U, Simon RP, Hallenbeck JM. Ischemic tolerance and endogenous neuroprotection. *Trends Neurosci*. 2003 May; 26(5): 248-54.
34. Wenger RH. Cellular adaptation to hypoxia: O₂-sensing protein hydroxylases, hypoxia-inducible transcription factors, and O₂-regulated gene expression. *FASEB J*. 2002 Aug; 16(10): 1151-62.
35. Arjamaa O, Nikinmaa M. Oxygen-dependent diseases in the retina: role of hypoxia-inducible factors. *Exp Eye Res*. 2006 Sep; 83(3):473-83.
36. Silva M, Grillot D, Benito A, Richard C, Nuñez G, Fernández-Luna JL. Erythropoietin can promote erythroid progenitor survival by repressing apoptosis through Bcl-XL and Bcl-2. *Blood*. 1996 Sep 1; 88(5):1576-82.
37. Sakanaka M, Wen TC, Matsuda S, Masuda S, Morishita E, Nagao M, Sasaki R. In vivo evidence that erythropoietin protects neurons from ischemic damage. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998 Apr 14; 95(8): 4635-40.
38. Kawakami M, Sekiguchi M, Sato K, Kozaki S, Takahashi M. Erythropoietin receptor-mediated inhibition of exocytotic glutamate release confers neuroprotection during chemical ischemia. *J Biol Chem*. 2001 Oct 19; 276(42): 39469-75.
39. Genc S, Koroglu TF, Genc K. Erythropoietin as a novel neuroprotectant. *Restor Neurol Neurosci*. 2004; 22(2): 105-19.
40. Fisher JW. Erythropoietin: physiology and pharmacology update. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2003 Jan; 228(1): 1-14.
41. Grimm C, Wenzel A, Groszer M, Mayser H, Seeliger M, Samardzija M, Bauer C, Gassmann M, Remé CE. HIF-1-induced erythropoietin in the hypoxic retina protects against light-induced retinal degeneration. *Nat Med*. 2002 Jul; 8(7): 718-24.
42. Katsura Y, Okano T, Matsuno K, Osako M, Kure M, Watanabe T, Iwaki Y, Noritake M, Kosano H, Nishigori H, Matsuoka T. Erythropoietin is highly elevated in vitreous fluid of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Diabetes Care*. 2005 Sep; 28(9): 2252-4.

43. Watanabe D, Suzuma K, Matsui S, Kurimoto M, Kiryu J, Kita M, Suzuma I, Ohashi H, Ojima T, Murakami T, Kobayashi T, Masuda S, Nagao M, Yoshimura N, Takagi H. Erythropoietin as a retinal angiogenic factor in proliferative diabetic retinopathy. *N Engl J Med*. 2005 Aug 25; 353(8): 782-92.
44. Beirão I, Lobato L, Costa PM, Fonseca I, Mendes P, Silva M, Bravo F, Cabrita A, Porto G. Kidney and anemia in familial amyloidosis type I. *Kidney Int*. 2004 Nov; 66(5):2004-9.
45. Bucciantini M, Calloni G, Chiti F, Formigli L, Nosi D, Dobson CM, Stefani M. Prefibrillar amyloid protein aggregates share common features of cytotoxicity. *J Biol Chem*. 2004; 279(30): 31374-31382
46. Reixach N, Deechongkit S, Jiang X, Kelly JW, Buxbaum JN. Tissue damage in the amyloidoses: Transthyretin monomers and nonnative oligomers are the major cytotoxic species in tissue culture. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004; 101(9): 2817-2822.
47. Junk AK, Mammis A, Savitz SI, Singh M, Roth S, Malhotra S, Rosenbaum PS, Cerami A, Brines M, Rosenbaum DM. Erythropoietin administration protects retinal neurons from acute ischemia-reperfusion injury. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002 Aug 6; 99(16): 10659-64.
48. Nassiri N, Nassiri N, Majdi M, Mehrjardi HZ, Shakiba Y, Haghnegahdar M, Heidari AB, Djalilian AR, Mirahmadian M. Erythropoietin levels in aqueous humor of patients with glaucoma. *Mol Vis*. 2012; 18:1991-5.
49. Hamid M, Fahmy I, Moemen L, El-Beltagy T. Role of matrix metalloproteinase-2 and its inhibitor and erythropoietin in the pathogenesis of pseudoexfoliative glaucoma. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 2008, 2(3): 752-56.
50. Beirão I, Moreira L, Porto G, Lobato L, Fonseca I, Cabrita A, Costa PM. Low erythropoietin production in familial amyloidosis TTR V30M is not related with renal congophilic amyloid deposition. A clinicopathologic study of twelve cases. *Nephron Clin Pract*. 2008; 109(2):c95-9.
51. Beirão I, Moreira L, Barandela T, Lobato L, Silva P, Gouveia CM, Carneiro F, Fonseca I, Porto G, Pinho E, Costa P.. Erythropoietin production by distal nephron in normal and familial amyloidotic adult human kidneys. *Clin Nephrol*. 2010 Nov; 74(5): 327-35.
52. Sousa MM, Cardoso I, Fernandes R, Guimarães A, Saraiva MJ. Deposition of transthyretin in early stages of familial amyloidotic polyneuropathy: evidence for toxicity of nonfibrillar aggregates. *Am J Pathol*. 2001; 159(6): 1993-2000.
53. Fiszman ML, Di Egidio M, Ricart KC, Repetto MG, Borodinsky LN, Llesuy SF, Saizar RD, Trigo PL, Riedstra S, Costa PP, Villa AM, Katz N, Lendoire JC, Sica RE. Evidence of oxidative stress in familial amyloidotic polyneuropathy type 1. *Arch Neurol*. 2003; 60(4): 593-597.
54. Sousa MM, Du Yan S, Fernandes R, Guimaraes A, Stern D, Saraiva MJ. Familial amyloid polyneuropathy: receptor for advanced glycation end products-dependent triggering of neuronal inflammatory and apoptotic pathways. *J Neurosci*. 2001; 21(19): 7576-7586.

55. Sousa MM, Yan SD, Stern D, Saraiva MJ. Interaction of the receptor for advanced glycation end products (RAGE) with transthyretin triggers nuclear transcription factor κ B (NF- κ B) activation. *Lab Invest.* 2000; 80(7): 1101-1110.
56. Monteiro FA, Sousa MM, Cardoso I, do Amaral JB, Guimarães A, Saraiva MJ. Activation of ERK1/2 MAP kinases in familial amyloidotic polyneuropathy. *J Neurochem.* 2006; 97(1): 151-161
57. Benson MD. Liver transplantation and transthyretin amyloidosis. *Muscle Nerve.* 2013; 47(2): 157-162.
58. Jelkmann W. Proinflammatory cytokines lowering erythropoietin production. *J Interferon Cytokine Res.* 1998 Aug; 18(8): 555-9.
59. Vannucchi AM, Grossi A, Rafanelli D, Statello M, Cinotti S, Rossi-Ferrini P. Inhibition of erythropoietin production in vitro by human interferon gamma. *Br J Haematol.* 1994 May; 87(1):18-23.
60. Balaiya S, Edwards J, Tillis T, Khetpal V, Chalam KV. Tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) levels in aqueous humor of primary open angle glaucoma. *Clin Ophthalmol.* 2011;5:553-6.
61. Prata TS, Navajas EV, Melo LA Jr, Martins JR, Nader HB, Belfort R Jr. Aqueous humor protein concentration in patients with primary open-angle glaucoma under clinical treatment. *Arq Bras Oftalmol.* 2007 Mar-Apr; 70(2): 217-20.
62. Grus FH, Joachim SC, Sandmann S, Thiel U, Bruns K, Lackner KJ, Pfeiffer N. Transthyretin and complex protein pattern in aqueous humor of patients with primary open-angle glaucoma. *Mol Vis.* 2008 Aug 4; 14:1437-45.
63. Inoue T, Kawaji T, Tanihara H. Elevated levels of multiple biomarkers of Alzheimer's disease in the aqueous humor of eyes with open-angle glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013 Aug 9;54(8):5353-8
64. Silva-Araújo AC, Tavares MA, Cotta JS, Castro-Correia JF. Aqueous outflow system in familial amyloidotic polyneuropathy, Portuguese type. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 1993 Mar; 231(3): 131-5.
65. Gherghel D, Hosking SL, Orgül S. Autonomic nervous system, circadian rhythms, and primary open-angle glaucoma. *Surv Ophthalmol.* 2004 Sep-Oct; 49(5): 491-508
66. Brown CM, Dütsch M, Michelson G, Neundörfer B, Hilz MJ. Impaired cardiovascular responses to baroreflex stimulation in open-angle and normal-pressure glaucoma. *Clin Sci (Lond).* 2002 Jun; 102(6): 623-30.
67. Clark CV, Mapstone R. Systemic autonomic neuropathy in open-angle glaucoma. *Doc Ophthalmol.* 1986; 64(2): 179-85.
68. Kumar R, Ahuja VM. A study of changes in the status of autonomic nervous system in primary open angle glaucoma cases. *Indian J Med Sci.* 1999 Dec; 53(12): 529-34.
69. Riccadonna M, Covi G, Pancera P, Presciuttini B, Babighian S, Perfetti S, Bonomi L, Lechi A.. Autonomic system activity and 24-hour blood

- pressure variations in subjects with normal- and high-tension glaucoma. J Glaucoma. 2003 Apr; 12(2): 156-63.
70. Kuchle M, Nguyen NX, Hannappel E, Naumann GO. The blood-aqueous barrier in eyes with pseudoexfoliation syndrome. Ophthalmic Res. 1995; 27 Suppl 1:136-42.
71. Nguyen NX, Kuchle M, Naumann GO. Quantification of blood-aqueous barrier breakdown after phacoemulsification in Fuchs' heterochromic uveitis. Ophthalmologica. 2005 Jan-Feb; 219(1): 21-5.

Table 1. Demographic of the groups

	Group 1 FAP glaucoma	Group 2 Non-FAP glaucoma	Group 3 FAP non-glaucoma	Group 4 Non-FAP non-glaucoma
Age (year, mean \pm SD)	55.4 \pm 10.0	55.8 \pm 7.0	55.9 \pm 8.5	58.8 \pm 4.9
Female/Male	5 / 5	4 / 7	4 / 5	5 / 7

Table 2. EPO in aqueous humor and serum of the groups

	Group 1 FAP glaucoma	Group 2 Non-FAP glaucoma	Group 3 FAP non-glaucoma	Group 4 Non-FAP non-glaucoma
Aqueous humor EPO level (mU/mL)	18.82 ± 10.16	75.73 ± 13.25	20.62 ± 6.22	17.22 ± 5.33
Serum EPO level (mU/mL)	13.44 ± 4.82	9.99 ± 2.84	15.04 ± 5.87	8.73 ± 4.12

Aqueous humor EPO (Mann-Whitney U test): Group 3 versus Group 4 P=0.23 ; Group 1 versus Group 2 P<0.001;
Group 1 versus Group 3 P=0.29; Group 2 versus Group 4 P<0.001

Table 3. Intraocular pressure and mean deviation in glaucoma groups

	Group 1 FAP Glaucoma	Group 2 Non FAP Glaucoma	P-value Mann-Whitney test
N	10	11	
IOP, mmHg, mean±SD	26.20 ±1.93	26.82 ± 1.72	0.39
Mean deviation, dB, mean±SD	-8.92 ± 3.30	-8.26 ± 3.63	0.75

Introdução

Descrição das alterações oftalmológicas da PAF na população portuguesa

Impacto do transplante hepático na oculopatia

Descrição de outras alterações: Presbiopia e Sensibilidade ao Contraste

Eritropoietina e neuroproteção no glaucoma

VI → Terapêutica da oculopatia da PAF

Alterações oculares de recetores de fígado PAF e risco de oculopatia

Discussão

Conclusões

Perspetivas futuras

VI →Terapêutica da oculopatia da PAF

Beirão NM, Matos E, Beirão I, Costa PP, Torres P. Recurrence of vitreous amyloidosis and need of surgical reintervention in Portuguese patients with familial amyloidosis ATTR V30M. *Retina*. 2011 Jul-Aug; 31(7): 1373-7.

Beirão NM, Matos ME, Meneres MJ, Beirão IM, Costa PP, Torres PA. Vitreous surgery impact in glaucoma development in liver transplanted familial amyloidosis ATTR V30M Portuguese patients. *Amyloid*. 2012 Sep; 19(3):146-51.

Beirão JM, Matos ME, Beirão IB, Costa PP, Torres PA. Topical cyclosporine for severe dry eye disease in liver-transplanted Portuguese patients with familial amyloidotic polyneuropathy (ATTRV30M). *Eur J Ophthalmol*. 2013 Mar-Apr; 23(2):156-63.

Beirão M, Miranda VP, Beirão I, Costa PP, Torres P. The use of intravitreal ranibizumab to treat neovascular glaucoma due to retinal amyloidotic angiopathy in familial amyloidosis ATTR V30M (FAP ATTR V30M). *Retinal Cases & Brief Reports*. 7:114–116, 2013

RESUMO

A amiloidose vítrea é uma manifestação característica da amiloidose familiar TTR V30 M, que pode surgir mesmo após o transplante hepático ou ser a primeira e a única manifestação da doença. O tratamento é a remoção do vítreo por vitrectomia. Vários autores referiam que podia haver recorrência da amiloidose vítrea.

Para avaliar a recorrência da amiloidose vítrea em doentes PAF e a sua relação com o grau de remoção vítrea efetuada previamente, efetuamos um estudo em 54 olhos de doentes PAF com um *follow-up* médio de 30,7 meses (8 a 78 meses). Em 41 olhos foi efetuada uma vitrectomia, o mais extensa possível (completa), e nos restantes 13 olhos foi efetuada vitrectomia sem indentação, com remoção do vítreo até onde era visível per-operatoriamente (incompleta). Os parâmetros avaliados foram a incidência de recorrência vítrea e o resultado da acuidade visual.

A melhoria da acuidade visual promovida pela vitrectomia foi marcada, apesar de alguns doentes referirem posteriormente uma diminuição da acuidade visual relacionada com novos depósitos de amiloide no eixo visual. Estes novos depósitos não foram encontrados nos olhos submetidos à remoção completa do vítreo, mas apenas nos olhos em que foi efetuada a vitrectomia incompleta.

Concluimos que não há uma verdadeira recorrência da amiloidose vítrea nos doentes PAF vitrectomizados mas apenas a deposição de amiloide no vítreo remanescente, que se encontrava transparente e que não fora removido na primeira vitrectomia.

O glaucoma é uma complicação frequente nos doentes com PAF e a sua prevalência tem aumentado com a melhoria da sobrevida proporcionada pelo transplante hepático. Embora controverso, alguns autores defendem que a vitrectomia promove o desenvolvimento do glaucoma de ângulo aberto, mesmo na ausência de complicações per ou pós operatórias. Colocou-se a hipótese de a remoção do vítreo promover o aporte de agregados pré-fibrilares e o aumento do *stress* oxidativo sobre o trabéculo, associado à livre circulação de radicais de oxigénio, com desequilíbrio o balanço pro-/antioxidante. Vários autores demonstraram que o *stress* oxidativo está implicado no desenvolvimento do

glaucoma e que os olhos com glaucoma têm os marcadores de *stress* oxidativo aumentados no humor aquoso. A PAF está associada a aumento do *stress* oxidativo local e sistémico.

Alguns autores, sugeriram que a remoção da amiloidose vítrea aumentava o risco de desenvolvimento ou agravamento do glaucoma nos doentes PAF, uma das complicações oculares mais sérias da PAF, podendo levar à perda irreversível da visão. Nestes doentes, a tensão ocular e a progresso da doença são frequentemente de difícil controlo, com necessidade de múltiplos fármacos e / ou cirurgias. De modo a avaliar o impacto da remoção das opacidades vítreas na pressão ocular e no desenvolvimento do glaucoma, avaliamos e comparamos: 1. a incidência de glaucoma num grupo de doentes vitrectomizados PAF e não PAF; 2. a incidência de glaucoma em doentes PAF vitrectomizados e não vitrectomizados; 3. nos doentes vitrectomizados PAF, determinar a importância da quantidade de remoção do vítreo. Esta análise mostrou que a vitrectomia induz de modo significativo o glaucoma em doentes PAF e que a remoção completa do vítreo nestes doentes provoca um desenvolvimento mais precoce e mais frequente do glaucoma.

O olho seco é muito frequente nos doentes PAF, podendo atingir uma prevalência próxima dos 90% em doentes com 10 ou mais anos de doença clínica, mesmo em doentes transplantados. Nos doentes com PAF, o olho seco, tem uma fisiopatologia multifatorial, envolvendo a diminuição da produção aquosa das glândulas lacrimais e mecanismos de aumento da evaporação. A produção e deposição de agregados proteicos pré-fibrilares na PAF associado à produção de citocinas pro-inflamatórias contribui para o início, o desenvolvimento e a auto-perpetuação desta manifestação, bem como o atingimento autónomo da glândula lacrimal. Estes múltiplos mecanismos, provavelmente amplificam-se mutuamente.

Avaliamos a eficácia e a segurança da ciclosporina tópica em colírio no tratamento de olho seco severo em doentes PAF transplantados hepáticos, medicados com ciclosporina sistémica, sem resposta adequada à terapêutica intensiva com lágrimas artificiais e *plugs* lacrimais. Para avaliação da resposta ao tratamento foram avaliados, ao longo de 11 meses, a acuidade visual corrigida, o

corneal punctate fluorescein staining (escala de 6 pontos de Oxford), o teste de Schirmer sem anestesia, o tempo de ruptura do filme lacrimal (TBUT) e o *Ocular Surface Disease Index (OSDI)*. Todos os doentes estavam sob tratamento intensivo com lágrimas artificiais, pelo menos há 12 meses e *plugs* lacrimais, há pelo menos 6 meses. Todos os parâmetros foram avaliados antes de iniciar tratamento (tempo 0), aos 3 meses (tempo 1), aos 7 meses (tempo 2) e aos 11 meses (tempo 3). O tratamento tópico com ciclosporina, mesmo em doentes medicados com ciclosporina oral melhorou significativamente todos os parâmetros avaliados. O perfil de segurança foi ótimo, com ausência de eventos adversos locais ou sistêmicos.

A angiopatia amiloidótica retiniana, embora rara, é uma situação grave que pode condicionar perda de visão. O caso clínico tratado com injeção intravítrea de ranibizumab e fotocoagulação LASER reporta a uma doente tinha 52 anos de idade, PAF e transplantada hepática, que apresentava glaucoma neovascular. No exame oftalmológico apresentava a melhor visão corrigida de 0.05 e tensões oculares de 42 mmHg. Foi medicada com anti hipertensores tópicos sem resultado e foi administrado ranibizumab intravítreo com resolução completa do quadro. A angiografia fluorosceínica realizada demonstrou oclusão vascular retiniana periférica a 360°, impregnação focal vascular e microaneurismas. A angiografia com verde indocianina demonstrou deposição amiloide ao longo dos vasos da coroideia. Face ao diagnóstico de angiopatia amiloidótica retiniana procedeu-se à fotocoagulação da retina periférica. A visão melhorou até 0.4 e mantinha-se após 24 meses de seguimento.

O ranibizumab intravítreo pode ter um papel no tratamento do glaucoma neovascular dos doentes PAF, coadjuvados pela fotocoagulação LASER. A observação da retina periférica deve ser incluída no exame oftalmológico dos doentes com PAF.

RECURRENCE OF VITREOUS AMYLOIDOSIS AND NEED OF SURGICAL REINTERVENTION IN PORTUGUESE PATIENTS WITH FAMILIAL AMYLOIDOSIS ATTR V30M

NUNO MELO BEIRÃO, MD,*† EDUARDA MATOS, MSc,‡ IDALINA BEIRÃO, MD, PhD,†‡
PAULO P. COSTA, MD, PhD,†§ PAULO TORRES, MD, PhD*‡

Purpose: Vitreous amyloid deposits are one of the most common ocular manifestations of familial amyloidosis ATTR V30M (FAP-I), which can be the only manifestation of the disease and can appear even after liver transplantation. Removal by vitrectomy is usually performed, but vitreous amyloid recurrence has been frequently reported. This study was undertaken to evaluate the recurrence of vitreous amyloidosis and its relationship with the degree of previous vitreous removal.

Methods: Fifty-four vitrectomized eyes from 32 patients with FAP-I were evaluated in the course of a follow-up period of 30.7 ± 17.2 months (range, 8–78; median = 30 months). An extensive, as possible, vitrectomy with indentation was performed in 41 eyes (complete), and in the others 13 eyes only a vitrectomy without indentation (incomplete) was performed. The parameters evaluated were the incidence of amyloid deposits and visual outcomes.

Results: A noteworthy visual acuity gain was observed, although a few patients had a subsequent decrease of visual acuity related to new vitreous amyloid deposition in the visual axis. These new amyloid deposits did not occur in eyes that had undergone extensive vitreous removal, but only in nonextensive vitrectomized eyes ($P < 0.001$).

Conclusion: Recurrence of amyloid deposition only occurred in nonextensive vitrectomized eyes and represents a false recurrence associated with incomplete vitrectomy.

RETINA 31:1373–1377, 2011

Familial amyloidosis ATTR V30M (FAP-I) is an autosomal-dominant disorder characterized by extracellular amyloid deposition in nerves (sensorimotor and autonomic polyneuropathy), solid organs, and the eye.¹ Familial amyloidosis ATTR V30M is caused by a single amino acid substitution of methionine for valine at position 30 of transthyretin (TTR), an abundant transport protein.² Until now,

more than 80 TTR variants were described as associated with familial amyloidosis.³ The liver is the major site of production of circulating TTR. More restricted production does take place in other locations, such as the choroid plexus and the retinal pigment epithelium.^{4–6} Previous studies have reported assorted ocular manifestations in FAP-I patients, including abnormal conjunctival vessels, keratoconjunctivitis sicca, pupillary abnormalities, glaucoma, and vitreous opacities.⁷

Vitreous opacification is a well-known clinical manifestation of FAP-I, caused by amyloid deposition in the vitreous body,⁸ leading to a progressive decrease in visual acuity.^{9–12} Usually, vitreous amyloid occurs late in the course of the disease, although rarely it is a presentation symptom of the disease.¹³ Local ocular

From the *Department of Ophthalmology, †Amyloid Research Center, Santo Antonio General Hospital, Porto, Portugal; ‡Abel Salazar Biomedical Institute, Prof. Abel Salazar Square, Porto, Portugal; and §INSA Dr. Ricardo Jorge, Porto, Portugal.

None of the authors report any conflicts of interest.

Reprint requests: Nuno Melo Beirão, MD, Serviço de Oftalmologia, Hospital de Santo António, Largo Prof. Abel Salazar, 2, 4099-001 Porto, Portugal; e-mail: bbeirao@iol.pt

TTR production by the retinal pigment epithelium.^{14,15} contributes to vitreous amyloid deposition even after liver transplantation, which has proved unable to impair this manifestation. Indeed, with the current widespread use of liver transplantation for the treatment of familial amyloidotic polyneuropathy, the number of FAP patients with opacification of the vitreous seems to be on the increase. In 1997, Ando et al⁷ reported vitreous opacities in 5.4% of patients, and later, in 2008, Sandgren et al¹⁶ found this ocular abnormality in 12.5% of the transplanted FAP population. The inability of liver transplantation to prevent the occurrence of vitreous opacities causes a deep psychological impact because it shows to the patient that the evolution of the disease is progressing and profoundly affects daily life.

Vitrectomy is the only treatment for amyloid vitreous opacities, with reestablishment of good visual acuity.¹⁷ In fact, this surgery has remarkably good immediate results, improving visual acuity, and complications are rare.^{8,18} However, some patients experience a decrease in visual acuity associated with further amyloid deposition in the visual axis and need surgical reintervention. It is known that each vitrectomy increases the surgical and anesthetic risks for the patient¹⁹ and also raises the cost of treatment for patients with FAP. The purpose of this study was to evaluate the recurrence of vitreous amyloidosis after successful vitrectomy and its relationship with the degree of vitreous removal.

Patients and Methods

Patients

Fifty-four eyes of 32 randomly selected patients with vitreous opacities diagnosed between January 2, 1999, and May, 30, 2009, with FAP-I were included in this study. All of them had a positive genetic test for the amyloidogenic TTR V30M mutation. Fourteen men (43.8%) and 18 women (56.3%) with a mean age of 47.56 ± 7.5 years (range, 36–66 years; median = 46.5 years) were diagnosed and followed up during 30.7 ± 17.2 months (range, 8–78 months; median = 30 months) by a retinal surgeon at the Department of Ophthalmology of the Santo António Hospital. Twenty of them (63%) had a previous liver transplant. Most of them (87.5%) had a classic onset of the disease with the beginning of symptoms before 50 years of age, and only 4 patients (12.5%) presented with symptoms later classified as late-onset clinical disease. Uncontrolled glaucoma, cataract, cataract surgery, and/or marked keratoconjunctivitis sicca were considered exclusion criteria. The study protocol was

approved by the Hospital Ethics Committee, and all patients signed informed consent for the vitreous surgery, after the usual explanation on prognosis, postsurgical outcomes, and complications.

Methods

All the patients with FAP-I were observed and treated by senior surgeons of the Surgical Retina Unit of the Department of Ophthalmology of the Santo António Hospital.

All surgeries were performed under peribulbar anesthesia and sedation. A 20-G pars plana vitrectomy was always performed with Accurus from Alcon Laboratory (Alcon Portugal, Ophthalmic Equipment and Products, Paço D'Arcos, Portugal). Pars plana vitrectomy was performed using standard technique. First, a careful posterior vitreous detachment was made, followed by the vitrectomy. Despite the relatively young age of patients with FAP-I, the posterior vitreous detachment was easily performed, starting around the disk with anterior progression. Each vitrectomy was classified as *complete* (extensive, as possible, vitreous removal with indentation and shaving of the peripheral vitreous) or *incomplete* (vitrectomy without indentation of the periphery).

The visual acuity was measured with a Snellen chart before and 2 months after surgery. Each patient was regularly observed for the presence of new amyloid deposits and reoperated if it caused a decreased visual acuity. In these cases, the visual acuity was evaluated as before the first vitrectomy.

Statistical analysis

Statistical analysis was done using the chi-square, Wilcoxon and Fisher tests for subgroup comparison, as appropriate. All analyses were conducted using PASW statistics 17.

Results

The mean age of diagnosis of vitreous opacities in patients with FAP was 47.56 ± 7.5 years (range, 36–66 years; median = 46.5 years). No significant differences were found between men and women (Mann–Whitney test, $P = 0.78$). Excluding the few late-onset patients, as they are rarely transplanted, there were no significant differences in the average age of diagnosis of vitreous amyloidosis between transplanted and not transplanted patients (Mann–Whitney test, $P = 0.32$).

All the patients with FAP-I were phakic, and all the vitrectomies were performed carefully without injury to the lens because the majority of the patients were young.

Extensive vitreous removal was made in 41 eyes. In the other 13 eyes, an incomplete vitrectomy was made. The decision of complete or incomplete vitrectomy was made by each retinal surgeon. We have some data (unpublished data, Melo Beirão, MD, 2010) suggesting that in patients with vitreous amyloidosis with FAP-I, complete vitrectomy, as we defined, is associated with the onset or worsening of glaucoma. New amyloid deposits were detected in all incomplete vitrectomized eyes, located in the remaining vitreous in almost all patients. Visual acuity impairment because of vitreous opacities leads to a second vitrectomy in 9 eyes (69.2%) of the incomplete vitrectomized eyes against 0% in complete vitrectomized eyes (Table 1). The diagnosis of amyloid recurrence took place on average 20.6 ± 11.3 months (range, 6–37 months) after the first vitrectomy.

A significant visual gain was observed after the first vitrectomy. The visual acuity (Snellen equivalent) improved from 0.23 ± 0.1 to 0.91 ± 0.1 (Wilcoxon test, $P < 0.001$). No significant difference was observed in visual acuity after the second surgery in comparison with the visual acuity after the first one (Wilcoxon test, $P = 0.16$) (Table 2). No significant complications in the immediate postoperative period were reported. The follow-up period was of 30.7 ± 17.2 months (range, 8–78 months; median = 30 months).

Discussion

Vitreous amyloidosis is very common in patients with FAP-I,⁹ and apparently, its frequency is not reduced by liver transplantation. On the contrary, the prevalence rate reported by some authors point to an increase after liver replacement.^{7,16} This increase may be associated with the increased survival of these patients^{20–23} and to the continued intraocular production of TTR Met 30,²⁴ leading to progressive accumulation of amyloid in the vitreous. Results of our study, which seem to show that liver transplantation has no influence on age of onset of vitreous amyloidosis, confirm with this interpretation.

Pars plana vitrectomy is the treatment usually proposed for the removal of vitreous amyloid. The results are remarkable, with a marked increase in visual acuity, if no other eye diseases exist^{8,11,18} as we could corroborate in our study. However, most authors refer a recurrence after several years of follow-up, with new deposition of amyloid in the vitreous cavity, leading to a decrease in visual acuity and need for a new vitrectomy.^{8,18,25–29} Results of our study confirmed that vitrectomy is a safe and useful treatment for vitreous opacities in patients with FAP-I. No complications of vitrectomy (retinal detachment, retinal tear, cataract, and glaucoma) were observed. In recent years, we have noted a decreased reference in the literature to vitreous amyloidosis recurrence, and we hypothesized that this could be explained by an improvement in surgical technique, with more complete and earlier vitreous removal surgery. Surgery made before the development of too many adherences (pseudopodis) of amyloid to the lens allows the extraction of vitreous without touching the lens. It is important to remember that many of these patients are too young to make a facoemulsification because of the loss of accommodation. During vitrectomy, in our patients, posterior vitreous detachment was easily done, despite their relatively young age. One possible explanation for that would be an amyloid-induced weakening of the attachment between the posterior hyaloid of the vitreous and the retina.

Our results showed that complete vitrectomy with extensive, as possible, vitreous removal was not associated with recurrence of amyloid deposition in the vitreous cavity. New amyloid deposits were observed in incompletely vitrectomized eyes and only at the remaining vitreous. The authors observed during the follow-up time that new amyloid deposition occurred in the remaining vitreous and over time can displace to the visual axis, causing a decrease in visual acuity and, in some eyes, mandating a new surgery. In fact, there is no true recurrence of amyloidosis of the vitreous, but continuing deposition of amyloid in the remaining vitreous. The vitreous removal degree is the main predictive factor for amyloid recurrence.

Table 1. Comparison Analysis Between Complete and Incomplete Vitrectomized Eyes for New Amyloid Deposition and Need of Surgical Reintervention

	Complete Vitrectomy	Incomplete Vitrectomy
Number of eyes operated	41	13
Presence of new amyloid deposits on funduscopy	0	13 (amyloid located in the remnant vitreous)
Second vitrectomy	0	9 (69.2%)*

A significant percentage of incomplete vitrectomized eyes (69.2%) were reoperated compared with complete vitrectomized eyes.

* $P < 0.001$, Fisher test.

Table 2. Visual Acuity Pre- and Postvitrectomy (Snellen Equivalent)

	VA Preoperative	VA Postoperative	VA Pre-reoperative	VA Post-reoperative
Complete vitrectomy	0.23 ± 0.11 (n = 41)	0.91 ± 0.06 (n = 41)	—	—
Incomplete vitrectomy	0.23 ± 0.11 (n = 13)	0.93 ± 0.07* (n = 13)	0.31 ± 0.16 (n = 9)	0.89 ± 0.06* (n = 9)

The visual acuity significantly improves after the surgery. The second vitrectomy (n = 9) did not significantly affect the VA compared with the VA after the first surgery.

*P = 0.16, Wilcoxon signed-rank test.

VA, visual acuity.

It is possible that the lack of amyloid deposition after complete vitrectomy is a result of the known association of amyloid with collagen fibers in FAP. This association was already noted in the seminal works of Missmahl and Gafni³⁰ based on polarization microscopy and later confirmed in the first ultrastructural study.³¹ In fact, ATTR amyloid is mainly associated with basement membranes throughout the body.³² Vitreous matrix fibrils are composed of heterotypic, mainly Type II collagen,³³ with structural and biochemical similarities to basement membrane collagen,³⁴ on which amyloid seems to aggregate by “seeding.”³⁵ Amyloid fibrillogenesis is a nucleation-dependent phenomenon, in which the initial formation of insoluble aggregates and their conversion to protofilaments may be rate limiting.^{36,37} In the absence of vitreous matrix, it is quite plausible that these precursor species are filtered out of the eye before amyloid fibril growth takes place. This could also perhaps contribute, through “clogging,” to the severe glaucoma that sometimes ensues in these patients.

This article shows that recurrence of vitreous amyloidosis does not occur in extensively vitrectomized eyes. Consequently, the authors recommend early and as complete as possible vitrectomy to treat vitreous amyloidosis in patients with FAP-I to prevent new amyloid deposition. Recent vitrectomy techniques, with the tips of 23-G and 25-G needles, already used by most retinal surgeons, allow a faster recovery of these patients, with less inflammation and no destruction of scleroconjunctival areas essential for the effectiveness of future or previous glaucoma surgeries. To our knowledge similar observations have not yet been published.

Key words: familial amyloidosis ATTR V30M, vitreous opacities, recurrence, FAP-I, vitrectomy, familial amyloid polyneuropathy, transthyretin, amyloid.

References

- Andrade C. A peculiar form of peripheral neuropathy; familial atypical generalized amyloidosis with special involvement of the peripheral nerves. *Brain* 1952;75:408–427.
- Tawara S, Nakazato M, Kangawa K, Matsuo H, Araki S. Identification of amyloid prealbumin variant in familial amyloidotic polyneuropathy (Japanese type). *Biochem Biophys Res Commun* 1983;116:880–888.
- Connors LH, Richardson AM, Théberge R, Costello CE. Tabulation of transthyretin (TTR) variants as of 1/1/2000. *Amyloid* 2000;7:54–69.
- Ong DE, Davis JT, O'Day WT, Bok D. Synthesis and secretion of retinol-binding protein and transthyretin by cultured retinal pigment epithelium. *Biochemistry* 1994;33:1835–1842.
- Buraczynska M, Mears AJ, Zarepari S, et al. Gene expression profile of native human retinal pigment epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43:603–607.
- Kawaji T, Ando Y, Nakamura M, et al. Transthyretin synthesis in rabbit ciliary pigment epithelium. *Exp Eye Res* 2005;81:306–312.
- Ando E, Ando Y, Okamura R, Uchino M, Ando M, Negi A. Ocular manifestations of familial amyloidotic polyneuropathy type I: long-term follow up. *Br J Ophthalmol* 1997;81:295–298.
- Monteiro JG, Martins AF, Figueira A, Saraiva MJ, Costa PP. Ocular changes in familial amyloidotic polyneuropathy with dense vitreous opacities. *Eye* 1991;5:99–105.
- Coutinho P, Silva AM, Lima LJ, et al. Forty years of experience with type I amyloid neuropathy. Review of 483 cases. In: Glenner GG, Costa PP, Freitas AF, eds. *Amyloid and Amyloidosis*. Amsterdam, The Netherlands: Excerpta Medica; 1980:88–89.
- Tsukahara S, Matsuo T. Secondary glaucoma accompanied with primary familial amyloidosis. *Ophthalmologica* 1977;175:250–262.
- Andersson R, Kassman T. Vitreous opacities in primary familial amyloidosis. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1968;46:441–447.
- Haraoka K, Ando Y, Ando E, et al. Amyloid deposition in ocular tissues of patients with familial amyloidotic polyneuropathy (FAP). *Amyloid* 2002;9:183–189.
- Kawaji T, Ando Y, Ando E, Nakamura M, Hirata A, Tanihara H. A case of vitreous amyloidosis without systemic symptoms in familial amyloidotic polyneuropathy. *Amyloid* 2004;11:257–279.
- Herbert J, Cavallaro T, Martone R. The distribution of retinol-binding protein and its mRNA in the rat eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1991;32:302–309.
- Munar-Qués M, Salva-Ladaria L, Mulet-Perera P, Solé M, López-Andreu FR, Saraiva MJ. Vitreous amyloidosis after liver transplantation in patients with familial amyloid polyneuropathy: ocular synthesis of mutant transthyretin. *Amyloid* 2000;7:266–269.
- Sandgren O, Kjellgren D, Suhr OB. Ocular manifestations in liver transplant recipients with familial amyloid polyneuropathy. *Acta Ophthalmol* 2008;86:520–524.

17. Machemer R. A new concept for vitreous surgery. 2. Surgical technique and complications. *Am J Ophthalmol* 1972;74:1022–1056.
18. Sandgren O, Stenkula S, Dedorsson I. Vitreous surgery in patients with primary neuropathic amyloidosis. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1985;63:383–388.
19. Chung SE, Kim KH, Kang SW. Retinal breaks associated with the induction of posterior vitreous detachment. *Am J Ophthalmol* 2009;147:1012–1016.
20. Lewis WD. Liver transplant and familial amyloidotic polyneuropathy. *Liver Transpl*. 2002;8:1085–1087.
21. Stangou AJ, Hawkins PN. Liver transplantation in transthyretin-related familial amyloid polyneuropathy. *Curr Opin Neurol* 2004;17:615–620.
22. Yamamoto S, Wilczek HE, Nowak G, et al. Liver transplantation for familial amyloidotic polyneuropathy (FAP): a single-center experience over 16 years. *Am J Transplant* 2007;7:2597–2604.
23. Shimojima Y, Morita H, Kobayashi S, Takei Y, Ikeda S. Ten-year follow-up of peripheral nerve function in patients with familial amyloid polyneuropathy after liver transplantation. *J Neurol* 2008;255:1220–1225.
24. Ando E, Ando Y, Haraoka K. Ocular amyloid involvement after liver transplantation for polyneuropathy. *Ann Intern Med* 2001;135:931–932.
25. Irvine AR, Char DH. Recurrent amyloid involvement in the vitreous body after vitrectomy. *Am J Ophthalmol* 1976;82:705–708.
26. Dofl BH, Machemer R, Skinner M, et al. Pars plana vitrectomy for vitreous amyloidosis. *Ophthalmology* 1987;94:607–611.
27. Knapp CM, Sarodia U, Brown L, Bibby K. Primary nonfamilial ocular amyloidosis. *Eye* 2003;17:252–254.
28. Koga T, Ando E, Hirata A, et al. Vitreous opacities and outcome of vitreous surgery in patients with familial amyloidotic polyneuropathy. *Am J Ophthalmol* 2003;135:188–193.
29. Sandgren O. Ocular amyloidosis, with special reference to the hereditary forms with vitreous involvement. *Surv Ophthalmol* 1995;40:173–196.
30. Missmahl H-P, Gafni J. Peri-collagen and peri-reticular amyloidosis. Their differentiation by polarization microscopy. *Path Microbiol (Bazel)* 1964;27:826.
31. Coimbra A, Andrade C. Familial amyloid polyneuropathy: an electron microscope study of the peripheral nerve in five cases. I. Interstitial changes. *Brain* 1971;94:199–206.
32. Misumi Y, Ando Y, Ueda M, et al. Chain reaction of amyloid fibril formation with induction of basement membrane in familial amyloidotic polyneuropathy. *J Pathol* 2009;219:481–490.
33. Bishop PN. Structural macromolecules and supramolecular organisation of the vitreous gel. *Prog Ret Eye Res* 2000;19:323–344.
34. Swan DA. Chemistry and biology of the vitreous body. *Int Rev Exp Pathol* 1980;22:1–64.
35. Streeten BA. Disorders of the vitreous. In Garner A, Klintworth GK, eds. *Pathobiology of Ocular Disease—A Dynamic Approach*, Part B. New York, NY: Marcel Dekker; 1982:1381–1419.
36. Quintas A, Saraiva MJM, Brito RMM. The tetrameric protein transthyretin dissociates to a non-native monomer in solution—a novel model for amyloidogenesis. *J Biol Chem* 1999;274:32943–32949.
37. Merlini G, Bellotti V. Molecular mechanisms of amyloidosis. *N Engl J Med* 2003;349:583–596.

ORIGINAL ARTICLE

Vitreous surgery impact in glaucoma development in liver transplanted familial amyloidosis ATTR V30M Portuguese patients

Nuno M. Beirão^{1,2}, Maria E. Matos³, Maria J. Meneres^{1,2}, Idalina M. Beirão^{2,3}, Paulo P. Costa^{3,4}
 & Paulo A. Torres^{1,3}

¹Ophthalmology Department, Hospital de Santo António-Centro Hospitalar do Porto, Porto, Portugal,

²Unidade Clínica de Paramioidose, Hospital de Santo António, Porto, Portugal, ³UMIB, ICBAS, Abel Salazar Biomedical Science Institute, Porto, Portugal, and ⁴INSA Dr. Ricardo Jorge, Porto, Portugal

Purpose: Familial amyloidosis with polyneuropathy (FAP) sometimes courses with vitreous amyloid. The aim of this study was to evaluate the incidence of glaucoma after vitrectomy in FAP patients. **Methods:** A total of 79 eyes of 42 liver transplanted FAP patients and 16 eyes of 16 non-FAP patients with rhegmatogenous retina detachment were collected. The patients were divided in to three groups: Group I – FAP patients with vitreous opacities submitted to vitrectomy, Group II – FAP patients without vitreous opacities and not submitted to vitrectomy and, Group III – non-FAP patients with rhegmatogenous retinal detachment submitted to vitrectomy. The Group I was subdivided into: Ia – “complete” vitrectomy; Ib – “incomplete” vitrectomy. The onset of glaucoma was considered when the intraocular pressure level was higher than 21 mmHg, with concomitant visual field abnormalities and optic nerve cupping. **Results:** Post vitrectomy glaucoma was more frequent in Group I (56.1%) than in Group III (12.5%) and in Group II (10.5%). We observed a higher incidence of glaucoma in the Ia than in the Ib subgroup (86.4 vs. 21.1%) and earlier appearance in subgroup Ia (7.9 ± 3.6 vs. 39.5 ± 6.6 months). **Conclusion:** Vitrectomy induced the development of glaucoma in FAP patients.

Keywords: amyloid, familial amyloidotic polyneuropathy, glaucoma, vitrectomy, vitreous

Abbreviations: FAP, Familial amyloidosis with polyneuropathy; ATTR V30M, amyloid transthyretin with amino acid substitution of methionine for valine at position 30; TTR V30M, transthyretin with amino acid substitution of methionine for valine at position 30

Introduction

Familial amyloidosis with polyneuropathy Portuguese type (FAP-I) is an autosomal dominant disorder with clinical onset usually before 50 years of age and a lethal outcome in 15 years, on average. Since the first description by Andrade [1] in Portugal, many patients have been reported all over the world [2–5]. It is one of the most common types of familial amyloidosis [6–8]. The amyloidogenic protein involved is a transthyretin variant with a substitution of methionine for valine at position 30 (TTR V30M) [9]. Transthyretin (TTR), a normal serum protein, is synthesized mainly in the liver (90%) and acts as a thyroxine and a vitamin A transporter [10]. In the normal human eye, TTR is also synthesized locally by the retinal pigment epithelium [11,12]. More than 100 TTR variants have been described, most of them amyloidogenic [13].

Liver transplantation is the currently recommended treatment for ATTR V30M amyloidosis, as it removes circulating mutant TTR. The disease progression is slowed, and the survival and quality of life ameliorate significantly [14–17], but most of the organ damage present at the time of liver transplantation is irreversible [18]. After liver transplantation, the intraocular production of TTR V30M remains unchanged, contributing to the progression of amyloid associated endocular pathologies such as glaucoma and vitreous opacities [19,20]. With the widespread use of liver transplantation in the treatment of this disease, the number of patients with glaucoma and/or vitreous amyloidosis seems to be on the increase. In 1997, Ando et al. observed a similar prevalence (5.4%) of glaucoma and vitreous opacities in non-liver transplanted FAP patients. In 2008, Sandgren et al. reported a higher prevalence of both conditions (glaucoma – 8% and

Correspondence: Melo Beirão, Serviço de Oftalmologia, Hospital de Santo António, Largo Prof. Abel Salazar, 24099-001 Porto, Portugal.
 Tel.: +351 966 009 826. Fax: + 351 226 066 106. E-mail: bbeirao@iol.pt

(Accepted July 2012)

vitreous opacities – 12.5 %) in liver transplanted patients, confirmed recently by Hara et al. [21].

Although vitreous opacities may cause severe loss of vision, in absence of other associated ocular pathology, vitrectomy allows an almost complete recovery without significant early complications [22–26]. On the contrary, glaucoma is considered the most serious ocular manifestation of FAP, since it can lead to irreversible loss of vision [27,28]. In these patients, both the ocular pressure and the progression of the disease are often difficult to control, often requiring a multi-drug therapeutic regimen and/or multiple surgeries [29]. An ultra-structural study of the trabecular meshwork conducted by Silva-Araújo et al. offered an explanation for the pathophysiology of glaucoma in these patients. In this study, the presence of extensive amyloid deposits in the intertrabecular spaces and the Schlemm's canal was shown to be characteristic of glaucoma operated eyes of FAP patients [30].

Based on earlier observations, some authors have hypothesized that removal of vitreous opacities could increase the risk of development or worsening of glaucoma [24].

In order to evaluate the impact of the removal of vitreous opacities in intraocular pressure and in the development of glaucoma, we evaluated and compared: 1 – the incidence of glaucoma in a large group of vitrectomized eyes from liver transplanted FAP ATTR V30M patients and non-FAP patients; 2 – the incidence of glaucoma in vitrectomized versus non vitrectomized eyes of liver transplanted FAP-I patients. Additionally, in the vitrectomized FAP patients group, we evaluated the influence of the thoroughness of the removal of vitreous opacities in the development of glaucoma.

Patients and methods

Patients

Ninety-five eyes from a pool of 42 FAP liver transplanted patients and 16 non-FAP patients were included in this study. The enrollment of patients occurred between January 1998 and December 2009. All liver transplanted FAP patients had their diagnosis confirmed by DNA analysis and were sent to the department of ophthalmology for evaluation of ocular abnormalities amyloidosis related. FAP patients were divided in two groups: Group I – FAP patients vitrectomized for vitreous opacities ($n = 23$; eyes = 41; age: 46.9 ± 6.2 years; 9 M/14 F; liver transplant follow-up: 7.2 ± 3.8 years; duration of disease: 13.20 ± 5.2 years) and, Group II – FAP patients without vitreous opacities ($n = 19$; eyes = 38; age: 44.5 ± 5.4 years; 11 M/8 F; liver transplant follow-up: 7.0 ± 1.3 years; duration of disease: 12.1 ± 2.8 years). Group III were non-FAP patients vitrectomized for rhegmatogenous retinal detachment ($n = 16$; eyes = 16; age: 46.1 ± 4.2 years). Group I was further subdivided into subgroup Ia – complete vitrectomy and subgroup Ib – incomplete vitrectomy. All groups were matched for age and gender, and FAP patients (Groups I and II) were matched for time since first FAP clinical symptoms and time since liver transplantation (Table I). All patients with previous ocular surgery or glaucoma were excluded, and the FAP vitreous opacities were similar.

Table I. Demographic and clinical characteristics of patients.

	<i>n</i>	Age (years)	Gender M/F	Duration of disease (years)	Time liver transplant (years)	Eyes (<i>n</i>)
Group I	23	46.91 ± 6.15	9/14	13.20 ± 5.2	7.22 ± 3.77	41
Group Ia	14	47.21 ± 5.26	7/7	12.14 ± 6.1	7.32 ± 4.40	22
Group Ib	9	46.44 ± 7.65	7/2	14.11 ± 4.86	7.11 ± 2.98	19
Group II	19	44.47 ± 5.35	11/8	12.05 ± 2.83	6.97 ± 1.26	38
Group III	16	46.12 ± 4.22	9/7	–	–	16

Methods

All patients were evaluated and followed by the same team at the Ophthalmology Department of Hospital Santo Antonio – Centro Hospitalar do Porto. All patients were observed regularly by a senior ophthalmologist: the day after surgery, in 1 week, at the end of the first month and once every 3 months. The onset of glaucoma was diagnosed when the intraocular pressure level was equal or higher than 22 mmHg, with optic nerve and visual field abnormalities.

Patients from Group I (FAP patients with vitreous opacities) and Group III (non-FAP patients with rhegmatogenous retinal detachment) were sent to the Retina Unit and submitted to pars plana vitrectomy by one of the five senior retinal surgeons. All vitrectomies were performed with a 20 G Accurus (Alcon Laboratory) under peribulbar or general anesthesia, according to patient preference and the anesthesiologist opinion. For FAP patients, all the vitrectomies were “routine” vitrectomies: induced and completed posterior vitreous detachment, followed by vitreous removal. According to the vitreous removal degree, vitrectomies, in FAP patients, were classified as complete (extensive, as possible, vitreous removal with indentation and shaving of the peripheral vitreous) or incomplete (vitrectomy without indentation of the periphery, leaving some peripheral vitreous), as described before [26]. The decision of complete or incomplete vitrectomy, was made randomly by each retinal surgeon. The vitrectomy in Group III patients (rhegmatogenous retinal detachment) was performed by shaving the vitreous as extensively as possible, with indentation by the assistant surgeon, cryoapplication or endolaser at the retinal tears and gas tamponade. In all the vitrectomies of this study, the lens were spared and patients were medicated with topical prednisolone, flurbiprofen and ofloxacin for 3 weeks. Pathologic study of the vitreous specimen confirmed the diagnosis of amyloidosis. Congo red staining of the sample displayed coarse fibrillar aggregates, which presented a green birefringence under polarized light. Bivariate analysis performed in groups and subgroups by gender, age, duration of symptoms, follow-up time after transplantation, progression to glaucoma (yes/no), time to develop glaucoma, and time of follow-up. The following statistical tests were used: chi-square, Kruskal Wallis and Mann–Whitney. All analyses were conducted using the PASW statistics 18 software package. The study was approved by the Ethic Committee of Centro Hospitalar do Porto and all patients signed informed consent.

Results

The demographic and clinical characteristics of study subjects are summarized in Table I. A total of 58 patients (95 eyes), 42 FAP patients (Group I and group II – 79 eyes) and 16 non-FAP patients (Group II – 16 eyes) were evaluated. In FAP Group I patients, vitreous opacities were diagnosed at a mean age of 46.9 ± 6.2 years. This group of patients underwent liver transplantation 7.2 ± 3.8 years before diagnosis of opacities, and had a disease course from first symptoms of FAP of 13.2 ± 5.2 years. Subgroup Ia (complete vitrectomy) and subgroup Ib (incomplete vitrectomy) were identical for mean age at diagnosis of vitreous opacities (47.2 ± 5.3 vs. 46.4 ± 7.7 years, Mann-Whitney $p = 0.65$), for mean time since liver transplantation (7.3 ± 4.4 vs. 7.1 ± 3.0 years, Mann-Whitney $p = 0.91$) and for mean duration of FAP symptoms (12.1 ± 6.1 vs. 14.1 ± 4.9 years, Mann-Whitney $p = 0.94$).

In FAP patients Group II, the mean age was 44.5 ± 5.4 years, the mean time since liver transplantation was 7.0 ± 1.3 years and the mean disease duration from first symptoms was 12.1 ± 2.8 years. There were no statistically significant differences between Group I and Group II for the time since liver transplantation (7.2 ± 3.8 vs. 6.0 ± 1.26 years, Mann-Whitney $p = 0.08$) and for disease duration from first symptoms (13.20 ± 5.2 vs. 12.05 ± 2.83 years, Mann-Whitney $p = 0.10$).

In the retinal detachment group (Group III), the mean age was 46.12 ± 4.22 years at the time of diagnosis. The three groups were similar for patients' age (Kruskal-Wallis $p = 0.18$) and presented a similar distribution by gender ($\chi^2 = 0.025$, $df = 2$, $p = 0.99$).

Postoperative follow-up was uneventful. There were no major complications, and retinal detachment reoperation was never necessary. The results of follow-up in the postoperative period are summarized in Table II.

In the Group I (41 eyes), the visual acuity (Snellen equivalent) improved from 0.29 ± 0.1 to 0.79 ± 0.1 postsurgery (Wilcoxon test $p < 0.001$). The procedure of choice varied slightly between subgroup Ia (22 eyes, 53.7%) and subgroup Ib (19 eyes, 46.3%), following the decision of the retinal surgeon [26]. The subgroup Ia was submitted to extensive vitreous removal, while the subgroup Ib was submitted to incomplete vitrectomy.

Twenty-four eyes from Group I (58.6%) developed glaucoma 4–34 months after vitrectomy (11.5 ± 8.8 months, Table II). Most of the patients were from subgroup Ia (18 eyes, 75%). Glaucoma diagnosis occurred significantly earlier in subgroup Ia than in subgroup Ib (8.0 ± 3.6 vs. 39.5 ± 6.6 months, Mann-Whitney test $p < 0.001$) (Figure 1). In Group II, only four eyes (10.5%) developed glaucoma at 35–49 months (39.5 ± 6.6) during the course of the study. In Group III, 2/16 eyes (12.5%) developed glaucoma, on average 40.5 ± 12.0 months after surgery. The incidence of glaucoma in Group I was significantly higher than in Group II ($24/41 = 58.6\%$ vs. $4/38 = 10.5\%$, $\chi^2 = 18.21$, $p < 0.001$), or in Group III ($2/16 = 12.5\%$, $\chi^2 = 8.884$, $p = 0.003$) (Figure 2). When comparing the subgroups Ia and Ib, a significant statistical difference was also noted, with a higher incidence of glaucoma with complete vitreous removal (subgroup Ia: $18/22 = 81.8\%$ vs. subgroup Ib: $6/19 = 31.6\%$, $\chi^2 = 17.658$, $p < 0.001$).

Table II. Postoperative follow-up and incidence of glaucoma.

	Glaucoma (eyes)	Time to glaucoma (months)	Follow-up (months)
Group I	24 (58.5%)	11.52 ± 8.83	29.61 ± 10.50
Group Ia	18 (75%)	7.95 ± 3.64	27.09 ± 9.5
Group Ib	6 (25%)	28.5 ± 5.2	32.53 ± 11.09
Group II	4 (10.5%)	39.5 ± 6.60	49.42 ± 27.44
Group III	2 (12.5%)	40.50 ± 12.02	40.50 ± 12.02

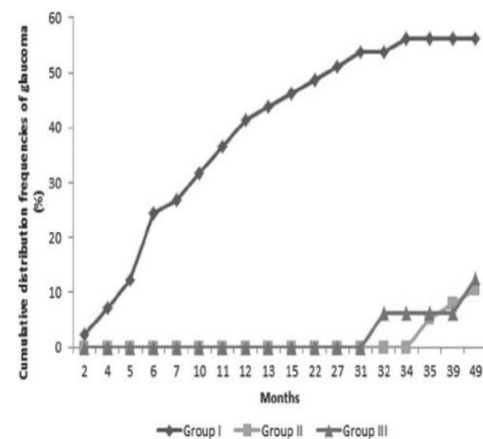


Figure 1. Cumulative distribution frequencies of glaucoma in the three study groups. Familial amyloidosis with polyneuropathy (FAP) patients submitted to vitrectomy (Group I) presented an earlier progression to glaucoma than non-vitrectomized FAP patients (Group II) and than vitrectomized non-FAP patients (Group III).

Comparing the eyes of FAP patients with non-FAP patients submitted to complete vitrectomy, we observed that glaucoma appeared significantly earlier in FAP patients (subgroup Ia) than in Group III (8.0 ± 3.6 vs. 40.5 ± 12.0 months – Mann-Whitney $p < 0.001$).

Significant statistical differences in the time of follow-up (Figure 3) were observed among the three groups (Kruskal-Wallis test, $p = 0.001$). No significant differences were observed between time of follow-up of Groups I and III (Mann-Whitney test, $p = 0.52$) and between Groups II and III (Mann-Whitney test, $p = 0.03$ – with Bonferroni correction). Within Group I, between subgroups Ia and Ib, there were no statistically significant differences in the follow-up time (Mann-Whitney test $p = 0.11$). Significant differences were observed when we compared the follow-up of Groups I and II (Mann-Whitney test $p < 0.001$). Although a shorter time of follow-up was observed in the Group I, the incidence of glaucoma is higher in this group (58.5%) than in the others groups (10.5% in Group II and 12.5% in Group III).

Discussion

Despite the removal of more than 90% of the mutant TTR from the circulation, liver transplanted FAP patients continue to have a long-term increased risk for severe ocular manifestations, especially vitreous opacities and glaucoma [19,21] due to continuous intraocular mutant TTR production [20].

In fact, with liver transplantation, the incidence of vitreous amyloidosis seems to increase [18,21]. It is associated with a decrease in vision acuity, but vitrectomy shows excellent results in the control of this disease [22–26]. The current use of 25 G vitrectomy tips allows the preservation of the filtration blebs of any previous glaucoma surgery, and reduces scarring formation at the conjunctiva and sclera, with maintenance of better conditions for possible future filtering surgery [31].

In FAP patients, glaucoma can appear suddenly and develop rapidly, with a significant rise in intraocular pressure, leading to severe visual loss [23]. In many of these patients, glaucoma is very difficult to control, often requiring multiple medications and/or multiple surgeries [32]. Some authors advocate that wild-type transthyretin deposition in non-FAP patients could play a role in the onset of glaucoma [33]. Glaucoma is not a rare condition in FAP patients, and has become increasingly prevalent, as liver transplantation allows for a longer survival of FAP patients [34]. Although some authors disagree [35], vitrectomy itself has been implicated in the development of primary open-angle glaucoma, even without surgery complications [36]. It has been hypothesized

that vitreous removal promotes an increase of oxidative stress on the trabecular meshwork, due to free circulation of oxygen causing a perturbation of the pro-/anti-oxidant balance [36]. Several studies have demonstrated that oxidative stress is implicated in the development of glaucoma and that the glaucomatous eye has increased oxidative stress markers in the aqueous humor [37–43]. Moreover, FAP disease is associated with local and systemic increased oxidative stress [44–48], possibly contributing to the development of glaucoma in these patients. Glaucoma affects 10.5 % of non-vitrectomized FAP patients during the follow-up, an incidence lower than the observed in vitrectomized non-FAP patients (12.5%), which points to a role of vitrectomy itself in glaucoma development. The continuous local production of TTR V30M after liver transplantation by the retinal pigment epithelium, and the absence of the vitreous support of collagen, which may act as a “filter” or a “seeding matrix” [49], allows the free circulation of the mutant TTR and probably also of amyloid protofilaments [50,51] in the vitreous cavity. In vitrectomized eyes, amyloid aggregates can easily reach the trabecular meshwork, following the flow of aqueous humor, causing amyloid deposition at intertrabecular spaces and Schlemm’s canal, as observed in FAP patients’ glaucoma [30]. *In vivo* findings suggest that, in presymptomatic FAP patients, early nonfibrillar TTR aggregates can induce the expression of oxidative stress, apoptosis related molecules and proinflammatory cytokines [48,52], factors that has been implicated in the initiation of various fibrotic disorders and the pathophysiology of glaucoma [53]. The presence of amyloid aggregates may contribute to the faster progression to glaucoma in vitrectomized eyes of FAP patients when compared with vitrectomized eyes of non-FAP patients with retinal detachment (58.5 vs. 12.5%). The higher incidence (75.0 vs. 25.0%) and earlier onset (8.0 ± 3.6 vs. 28.5 ± 5.2 years) of glaucoma associated with complete vitrectomy in subgroup Ia, corroborates this hypothesis. The authors suggest that the remaining vitreous, left in the eye in incomplete vitrectomy, could act as a “filter” that retains mutant TTR protofilaments and promotes its deposition in the vitreous itself, decreasing and delaying amyloid deposition in the trabecular meshwork. Incomplete vitrectomy is associated with reduced damage of the trabecular meshwork, explaining the less frequent and delayed progression to glaucoma in these FAP patients.

Although Group I follow-up is significantly different from the Group II follow-up, this should not influence the assessment of results. In fact, an increase in the time of follow-up of Group I patients could only increase the number of FAP patients’ eyes with glaucoma, and the conclusions would not be altered.

Glaucoma has also been associated with autonomic nervous system dysfunction. Both open-angle and normal-pressure glaucoma have been reported in patients with systemic sympathetic and parasympathetic neuropathies, suggesting that autonomic dysfunction may play a role in glaucomatous damage [54–57]. The autonomic nervous system also affects the circadian rhythms of intraocular pressure and aqueous humor dynamics [58]. FAP patients have early and severe injury of the autonomic nervous system, often with orthostatic hypotension

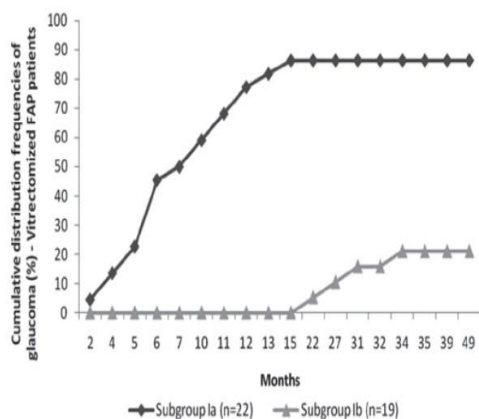


Figure 2. Cumulative distribution frequencies of glaucoma in FAP patients submitted to complete vitrectomy (subgroup Ia) and incomplete vitrectomy (subgroup Ib).

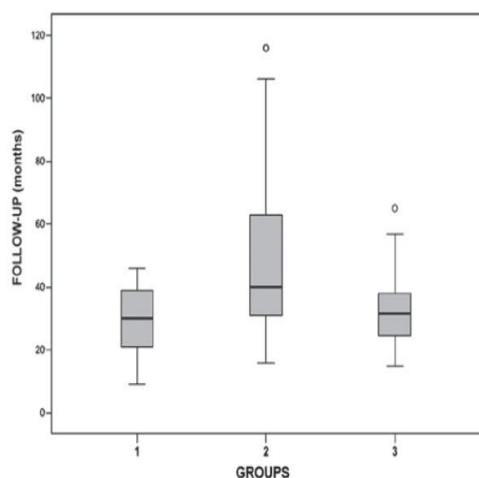


Figure 3. Follow-up time (months) of the three study groups.

and bradycardia [59–62]. It is likely that FAP patients have poorer self-regulation of the optic nerve head circulation, and therefore need a lower ocular pressure to counteract glaucoma damage at the optic nerve [63–65]. It is certainly conceivable that for the same intraocular pressure level, FAP patients could need more intensive medical and/or surgical antiglaucoma therapy than non-FAP patients. Based on these results, the authors propose that incomplete vitrectomy is more adequate for the treatment of vitreous opacities in FAP patients (TTR Val50Met), using a non-indentation vitrectomy procedure, despite the slight increased risk of reoperation [26]. In the future, vitrectomy could be supplemented with endophotocoagulation, following the suggestion of Kawaji et al., to prevent mutant TTR production and the development of glaucoma related to amyloid deposition [32]. With the dramatic increase in life expectancy of these patients after liver transplantation, it is expected that eventually all patients will develop severe ocular disease. FAP patients' eyes, especially those already submitted to vitrectomy, need close ophthalmologic follow-up, to avoid the rapid emergence of glaucoma and permanent vision loss.

Declaration of Interest: The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of the paper.

References

- Andrade C. A peculiar form of peripheral neuropathy; familial atypical generalized amyloidosis with special involvement of the peripheral nerves. *Brain* 1952;75:408–427.
- Sousa A, Andersson R, Drugge U, Holmgren G, Sandgren O. Familial amyloidotic polyneuropathy in Sweden: geographical distribution, age of onset, and prevalence. *Hum Hered* 1993;43:288–294.
- Reilly MM, Adams D, Booth DR, Davis MB, Said G, Laubriat-Bianchin M, Pepys MB, et al. Transthyretin gene analysis in European patients with suspected familial amyloid polyneuropathy. *Brain* 1995;118 (Pt 4):849–856.
- Ikeda S, Nakazato M, Ando Y, Sobue G. Familial transthyretin-type amyloid polyneuropathy in Japan: clinical and genetic heterogeneity. *Neurology* 2002;58:1001–1007.
- Munar-Qués M, Costa PP, Saraiva MJ, Viader-Farré C, Munar-Bernat C. [Familial type I (Portuguese form) amyloidotic polyneuropathy in Majorca. Study using the TTR (Met30) genetic marker]. *Med Clin (Barc)* 1988;91:441–444.
- Sousa A, Coelho T, Barros J, Sequeiros J. Genetic epidemiology of familial amyloidotic polyneuropathy (FAP)-type I in Póvoa do Varzim and Vila do Conde (north of Portugal). *Am J Med Genet* 1995;60:512–521.
- Benson MD, Cohen AS. Generalized amyloid in a family of Swedish origin. A study of 426 family members in seven generations of a new kinship with neuropathy, nephropathy, and central nervous system involvement. *Ann Intern Med* 1977;86:419–424.
- Ando Y, Nakamura M, Araki S. Transthyretin-related familial amyloidotic polyneuropathy. *Arch Neurol* 2005;62:1057–1062.
- Saraiva MJ, Costa PP, Birken S, Goodman DS. Presence of an abnormal transthyretin (prealbumin) in Portuguese patients with familial amyloidotic polyneuropathy. *Trans Assoc Am Physicians* 1983;96:261–270.
- Monaco HL. The transthyretin-retinol-binding protein complex. *Biochim Biophys Acta* 2000;1482:65–72.
- Dwork AJ, Cavallaro T, Martone RL, Goodman DS, Schon EA, Herbert J. Distribution of transthyretin in the rat eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1990;31:489–496.
- Kawaji T, Ando Y, Nakamura M, Yamamoto K, Ando E, Takano A, Inomata Y, et al. Transthyretin synthesis in rabbit ciliary pigment epithelium. *Exp Eye Res* 2005;81:306–312.
- Connors LH, Richardson AM, Théberge R, Costello CE. Tabulation of transthyretin (TTR) variants as of 1/1/2000. *Amyloid* 2000;7:54–69.
- Okamoto S, Wixner J, Obayashi K, Ando Y, Ericzon BG, Friman S, Uchino M, Suhr OB. Liver transplantation for familial amyloidotic polyneuropathy: impact on Swedish patients' survival. *Liver Transpl* 2009;15:1229–1235.
- Yamamoto S, Wilczek HE, Nowak G, Larsson M, Oksanen A, Iwata T, Gjertsen H, et al. Liver transplantation for familial amyloidotic polyneuropathy (FAP): a single-center experience over 16 years. *Am J Transplant* 2007;7:2597–2604.
- Suhr OB, Friman S, Ericzon BG. Early liver transplantation improves familial amyloidotic polyneuropathy patients' survival. *Amyloid* 2005;12:233–238.
- Jonsén E, Suhr OB, Tashima K, Athlin E. Early liver transplantation is essential for familial amyloidotic polyneuropathy patients' quality of life. *Amyloid* 2001;8:52–57.
- Sandgren O, Kjellgren D, Suhr OB. Ocular manifestations in liver transplant recipients with familial amyloid polyneuropathy. *Acta Ophthalmol* 2008;86:520–524.
- Munar-Qués M, Salva-Ladaria L, Mulet-Perera P, Solé M, López-Andreu FR, Saraiva MJ. Vitreous amyloidosis after liver transplantation in patients with familial amyloid polyneuropathy: ocular synthesis of mutant transthyretin. *Amyloid* 2000;7:266–269.
- Haraoka K, Ando Y, Ando E, Sun X, Nakamura M, Terazaki H, Misumi S, et al. Presence of variant transthyretin in aqueous humor of a patient with familial amyloidotic polyneuropathy after liver transplantation. *Amyloid* 2002;9:247–251.
- Hara R, Kawaji T, Ando E, Ohya Y, Ando Y, Tanihara H. Impact of liver transplantation on transthyretin-related ocular amyloidosis in Japanese patients. *Arch Ophthalmol* 2010;128:206–210.
- Sandgren O, Stenkula S, Dedorsson I. Vitreous surgery in patients with primary neuropathic amyloidosis. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1985;63:383–388.
- Doft BH, Machemer R, Skinner M, Buettner H, Clarkson J, Crock J, McLeod D, et al. Pars plana vitrectomy for vitreous amyloidosis. *Ophthalmology* 1987;94:607–611.
- Monteiro JG, Martins AF, Figueira A, Saraiva MJ, Costa PP. Ocular changes in familial amyloidotic polyneuropathy with dense vitreous opacities. *Eye (Lond)* 1991;5 (Pt 1):99–105.
- Koga T, Ando E, Hirata A, Fukushima M, Kimura A, Ando Y, Negi A, Tanihara H. Vitreous opacities and outcome of vitreous surgery in patients with familial amyloidotic polyneuropathy. *Am J Ophthalmol* 2003;135:188–193.
- Beirão NM, Matos E, Beirão I, Costa PP, Torres P. Recurrence of vitreous amyloidosis and need of surgical reintervention in Portuguese patients with familial amyloidosis ATTR V30M. *Retina (Philadelphia, Pa)* 2011;31:1373–1377.
- Frau E, Lautier-Frau M, Saindelle-Ribeaudeau F, Adams D, Bousquet A, Labétoulle M, Offret H. [Familial amyloid polyneuropathy type I complicated by chronic glaucoma: 3 cases]. *J Fr Ophthalmol* 2000;23:217–220.
- Vella FS, Simone B, Giannelli G, Sisto D, Sborgia C, Antonaci S. Glaucoma in primary amyloidosis: a fortuitous or causative association? *Am J Med* 2002;113:252–254.
- Kawaji T, Ando Y, Hara R, Tanihara H. Novel therapy for transthyretin-related ocular amyloidosis: a pilot study of retinal laser photocoagulation. *Ophthalmology* 2010;117:552–555.
- Silva-Araújo AC, Tavares MA, Cotta JS, Castro-Correia JE. Aqueous outflow system in familial amyloidotic polyneuropathy, Portuguese type. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1993;31:131–135.
- Miyahara T, Ohta K, Yamamoto Y, Ueno A, Murata T. 25-gauge vitrectomy to treat ocular complications of familial amyloid polyneuropathy. *J Glaucoma* 2007;16:169–170.
- Kawaji T, Ando Y, Hara R, Tanihara H. Novel therapy for transthyretin-related ocular amyloidosis: a pilot study of retinal laser photocoagulation. *Ophthalmology* 2010;117:552–555.
- Grus FH, Joachim SC, Sandmann S, Thiel U, Bruns K, Lackner KJ, Pfeiffer N. Transthyretin and complex protein pattern in aqueous humor of patients with primary open-angle glaucoma. *Mol Vis* 2008;14:1437–1445.
- Kimura A, Ando E, Fukushima M, Koga T, Hirata A, Arimura K, Ando Y, et al. Secondary glaucoma in patients with familial amyloidotic polyneuropathy. *Arch Ophthalmol* 2003;121:351–356.
- Yu AL, Brummeis W, Schaumberger M, Kampik A, Welge-Lüssen U. Vitrectomy does not increase the risk of open-angle glaucoma or ocular hypertension—a 5-year follow-up. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2010;248:1407–1414.
- Chang S. LXII Edward Jackson lecture: open angle glaucoma after vitrectomy. *Am J Ophthalmol* 2006;141:1033–1043.
- Tezel G. The immune response in glaucoma: a perspective on the roles of oxidative stress. *Exp Eye Res* 2011;93:178–186.

ORIGINAL ARTICLE

Topical cyclosporine for severe dry eye disease in liver-transplanted Portuguese patients with familial amyloidotic polyneuropathy (ATTRV30M)

João M. Beirão^{1,2}, Maria E. Matos³, Idalina B. Beirão^{2,3}, Paulo P. Costa^{3,4}, Paulo A. Torres^{1,3}

¹Ophthalmology, Hospital de Santo António, Porto - Portugal

²Unidade Clínica de Paramiloidose, Hospital de Santo António, Porto - Portugal

³UMIB, ICBAS, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Porto - Portugal

⁴INSA Dr. Ricardo Jorge, Porto - Portugal

PURPOSE. Evaluation of the use of topical cyclosporine eyedrops in the treatment of severe dry eye disease in liver transplanted patients with familial amyloidotic polyneuropathy (FAP) unresponsive to therapy with artificial tears and lacrimal plugs.

METHODS. A prospective clinical study of 5 patients (10 eyes) admitted to the Ophthalmology Department of the Centro Hospitalar do Porto with severe dry eye disease refractory to artificial tears and lacrimal plug treatments. Evaluation of the patients included best-corrected visual acuity, corneal punctate fluorescein staining, tear break-up time, Schirmer test without anesthesia, and Ocular Surface Disease Index. Patients were observed at time 0, and at 3, 7, and 11 months.

RESULTS. Treatment with topical cyclosporine improved all studied parameters from baseline, and in all the patients ($p < 0.001$). The safety profile was excellent, without topical or systemic adverse events.

CONCLUSIONS. Topical cyclosporine was beneficial in the treatment of severe dry eye disease in liver transplanted patients with FAP.

KEY WORDS. Amyloid, Cyclosporine, Dry eye, Familial amyloid polyneuropathy, Keratoconjunctivitis sicca, Transthyretin

Accepted: August 12, 2012

INTRODUCTION

Familial amyloidotic polyneuropathy (FAP) is a neurodegenerative hereditary autosomal dominant disease characterized by the extracellular deposition of transthyretin (TTR)-derived amyloid fibrils in several tissues, particularly in the peripheral nervous system (1). The largest focus of the disease is in Portugal, where age at onset of clinical symptoms has a wide range (17 to 78 years). Many amyloidogenic point mutations in TTR have been described (2) but in Portuguese FAP kindreds a valine for methionine substitution at position 30 of the protein (Val30Met) is almost exclusively implicated (3).

Dry eye disease is very common in patients with FAP (4), reaching 83.3% of nontransplanted patients with 10 years or more of clinical disease (5). The impact of liver transplantation in the natural history of dry eye disease in these patients is unknown, but dry eye is still very frequent (6). Dry eye disease in patients with FAP is a multifactorial disorder involving aqueous deficiency and evaporative mechanisms (7) (Tab. I). In addition, dysautonomia of the lacrimal gland (8) and deposition of prefibrillar protein aggregates (9, 10) with production of proinflammatory cytokines contributes to this disorder and to its self-perpetuation (11). Dysfunctional tear syndrome (12) is a growing public health problem, with millions of patients around the world (13, 14) and one of the most frequent reasons for the demand for

*Topical cyclosporine in FAP severe dry eye disease***TABLE I - CAUSES OF DRY EYE DISEASE IN PATIENTS WITH FAP**

Aqueous deficient	Lacrimal gland insufficiency	Primary: dysautonomia of lacrimal gland Secondary: lacrimal gland amyloid infiltration
	Reflex hyposecretion	Sensory neuropathy
Evaporative	Meibomian gland dysfunction	Disautonomy of the accessory lacrimal glands
	Blink disorders	Infrequent blinking

FAP = familial amyloidotic polyneuropathy.

ophthalmology consultation (15, 16). It is associated with a clearly adverse impact on vision-related quality of life and has a negative influence in several tasks of daily living (17), including visual acuity (18).

The management of dry eye disease includes avoidance of exacerbating factors, eyelid hygiene, tears supplementation, tear retention, tear stimulation, and anti-inflammatory agents (19, 20). Artificial tear supplementation is the mainstay of dry eye disease treatment and should be used in all stages of the disease (21). A tear retention mechanism is indicated in patients with aqueous-deficient dry eye disease, but when inflammation is present it should be avoided until disease control is achieved (22). Several trials have demonstrated that the use of topical corticosteroids improves signs and symptoms of dry eye disease (23), but topical cyclosporine is the only pharmacologic treatment approved by the Food and Drug Administration specifically for dry eye disease. The clinical effect of cyclosporine ophthalmic emulsion in the keratoconjunctivitis sicca was first examined by Stevenson et al, who observed a significant improvement in symptoms and in dye scores (24). Further studies also noted increased tear production as assessed by the Schirmer test, great improvements in blurred vision complaints, and a decrease in the frequency of supplemental artificial tear application (25). Ophthalmic topical cyclosporine was also shown to be effective in patients with punctual occlusion (26) and as a disease-modifying drug (19).

Cyclosporine was discovered in 1972 as an antifungal agent, but a few years later it assumed an important role in immunosuppressive therapy for solid organ transplantation (27, 28) and in the treatment of autoimmune disease (29). Its major systemic effects are a result of its ability to inhibit activation of T lymphocytes, through the suppression of the expression of interleukin 2 on T helper lymphocytes (30). Cyclosporine was first used in liver transplantation by

Starzl in 1980 (31) and from that date it became the basis of immunosuppressant protocols for the prophylaxis of rejection, as is the case with liver transplanted patients with FAP. Value-based analysis has already demonstrated that topical cyclosporine is cost-effective, and confers quality of life improvements in patients with moderate to severe dry eye syndrome who do not respond to conventional therapy (32). Topical cyclosporine has a wide safety profile (33), does not produce lens changes or modify wound healing (30, 34), and does not increase the rate of ocular infections (24, 25).

The purpose of this study was to evaluate topical cyclosporine in liver transplanted patients with FAP, with severe dry eye disease unresponsive to artificial tears therapy and punctual lacrimal plugs, and already treated with oral cyclosporine.

PATIENTS

An open-label and nonrandomized clinical study was conducted by a single senior ophthalmologist of Hospital Santo Antonio/Centro Hospitalar Porto, Portugal. The complete study protocol was performed just before the initiation of the use of topical cyclosporine (time 0), and after 3 months (time 1), 7 months (time 2), and 11 months (time 3).

Five nonconsecutive FAP liver transplanted patients with bilateral severe dry eyes were enrolled prospectively between May 2009 and December 2010. Two eyes of the same patient were vitrectomized for vitreous amyloidosis. Two eyes of another patient were trabeculectomized for medically uncontrolled glaucoma. Four eyes of another 2 patients were vitrectomized and trabeculectomized, and 2 eyes of one patient did not undergo any surgery. All of the patients were under treatment

with oral cyclosporine for the control of liver transplant rejection. The female-male ratio was 4:1. Age ranged between 43 and 54 years, with an average of 48.6 ± 4.5 years and a median of 48 years. The average time since liver transplantation was 9.6 ± 2.1 years, with a median of 10 years. The average time of symptomatic FAP disease was 16 ± 3.7 years with a median of 18 years (Tab. II). All eyes were submitted to lacrimal plug introduction 6 months previously, and were under topical artificial tears treatment for at least 12 months. These patients had not shown significant improvements in dry eye syndrome. This study was approved by the hospital ethics committee and followed the principles of the Helsinki Declaration.

METHODS

Topical cyclosporine was administered twice daily in each eye, and artificial tears treatment was maintained throughout the study. All patients were evaluated in the same office, with the same ophthalmologic equipment and by the same senior ophthalmologist.

Best-corrected visual acuity

The functional parameter of vision used in this study was the best-corrected visual acuity (BCVA) (Snellen chart). Schirmer test without anesthesia was used to determine the aqueous tear flow. A paper strip (Schirmer-Plus manufactured by DINA-HITEX) was used in all patients, without anesthesia and with eyes closed (35), and removed after 5 minutes. The amount of wetting was measured in millimeters to determine the Schirmer test value.

Noninvasive fluorescein tear break-up time (TBUT) was used to evaluate tear film instability. A drop of Fluotest® (fluorescein 2.5 mg/dL + oxybuprocaine hydrochloride 0.4%, ALCON Portugal) was applied into the inferior palpebral conjunctiva. The tear film was evaluated by slit-lamp biomicroscope with cobalt blue filter, and the elapsed time (seconds) before the formation of dry spots or rupture of the tear film was recorded.

Corneal punctate fluorescein staining

Corneal staining was performed 1 minute after the TBUT measure. The Oxford Scheme 6-point scale (0 = none to 5 = severe) was used for grading the staining (36).

Ocular Surface Disease Index

A global assessment questionnaire with 12 questions was used to evaluate symptoms of dry eye and its impact on vision-related function. Each question was scored by the patient from 0 to 4, and the result reported as a cumulative percentage. The Ocular Surface Disease Index (OSDI) is a standardized instrument to diagnose and follow-up dry eye disease (37). The primary safety variable monitored was the occurrence of adverse events. Other safety variables monitored included intraocular pressure and biomicroscopy. Safety variables were evaluated at baseline and at each visit. Serum cyclosporine remained always within the recommended range according to the liver transplantation physician's recommendations. Statistical analysis was carried out using the statistical program PASW statistics 18. Friedman tests and Wilcoxon signed ranks tests were performed for evaluating changes in the values of BCVA, corneal punctate fluorescein staining (CPFS), Schirmer test, TBUT, and OSDI during follow-up. A significance level of 0.05 was

TABLE II - PATIENT DEMOGRAPHICS

No. of patients	5
Male/female	1/4
Age, y, mean ± SD (median/range)	48.6 ± 4.5 (48/43-54)
Average time of liver transplantation, y, mean ± SD (median)	9.6 ± 2.1 (10)
Average time of symptomatic FAP disease, y, mean ± SD (median)	16 ± 3.7 (18)

FAP = familial amyloidotic polyneuropathy.

Topical cyclosporine in FAP severe dry eye disease

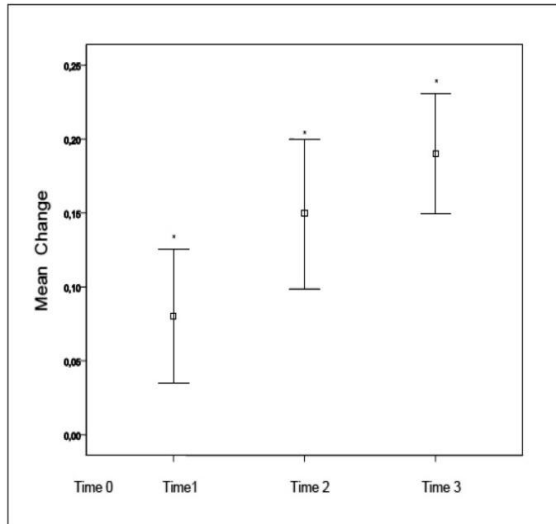


Fig. 1 - Change from baseline in best-corrected visual acuity. *Significantly different from baseline ($p < 0.001$).

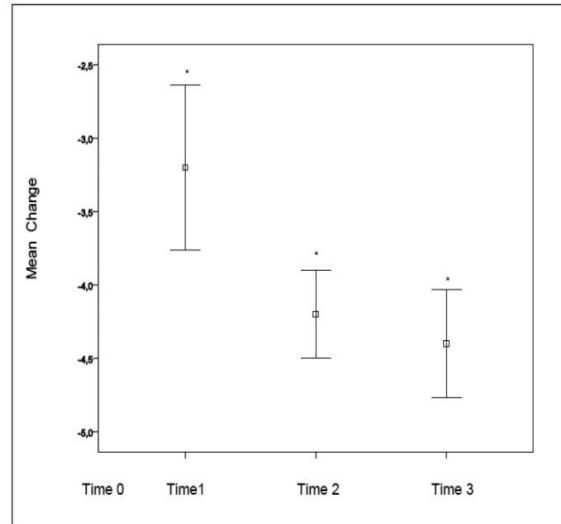


Fig. 2 - Mean change in Ocular Surface Vital Dye score. *Significantly different from baseline ($p < 0.001$).

adopted for the Friedman test and of 0.0083 for the Wilcoxon test (Bonferroni correction $0.05/6 = 0.0083$).

RESULTS

No patient discontinued the treatment during the follow-up time and no local or systemic treatment-related adverse events were noticed.

Best-corrected visual acuity

The pretreatment mean BCVA measured was 0.29 ± 0.09 (range 0.1-0.4; median 0.3), improving to 0.37 ± 0.07 at time 1, to 0.44 ± 0.07 at time 2, and to 0.48 ± 0.06 at time 3 ($p < 0.001$). Compared to baseline, the improvement of BCVA was significant at time 2 ($p = 0.004$) but not between time 1 and time 2 ($p = 0.02$) (Fig. 1).

Corneal punctate fluorescein staining

At baseline, the mean value for corneal punctate fluorescein staining was 5.00. There was a statistically significant improvement to 2.00 ± 0.47 at time 1, to 0.80 ± 0.42 at time 2, and to 0.60 ± 0.52 at time 3 ($p < 0.001$). The improvement in corneal staining was significant at time 2 ($p = 0.003$), but not between time 2 and time 3 ($p = 0.157$) (Fig. 2).

Schirmer test

The mean Schirmer test at baseline was 0.00. There was a statistically significant improvement of aqueous tear production to a mean of 1.10 ± 0.57 at time 1, to 1.80 ± 0.63 at time 2, and to 1.80 ± 0.63 at time 3 ($p < 0.001$). The improvement in the Schirmer test without anesthesia was significant at time 2 ($p = 0.004$), but not between time 2 and time 3 ($p = 1$) (Fig. 3).

Tear break-up time

Before cyclosporine eyedrop application, the TBUT was 0.00 in all studied eyes. The improvement was statistically significant, to a mean of 1.1 ± 0.32 at time 1, to 1.17 ± 0.42 at time 2, and to 1.2 ± 0.42 at time 3 ($p < 0.001$). The improvement was significant at time 1 ($p = 0.002$), but no improvement was observed between time 1 and time 2 ($p = 0.317$), or between time 2 and time 3 ($p = 1$) (Fig. 4).

Ocular Surface Disease Index

For the subjective ocular symptoms, the baseline OSDI questionnaire score was considered as 100 in all patients. Statistically significant increases in the scores were observed at time 1 (mean of 88.2 ± 2.95), at time 2 (mean of 81.2 ± 3.83), and at time 3 (mean of 76.40 ± 4.72) ($p = 0.002$).

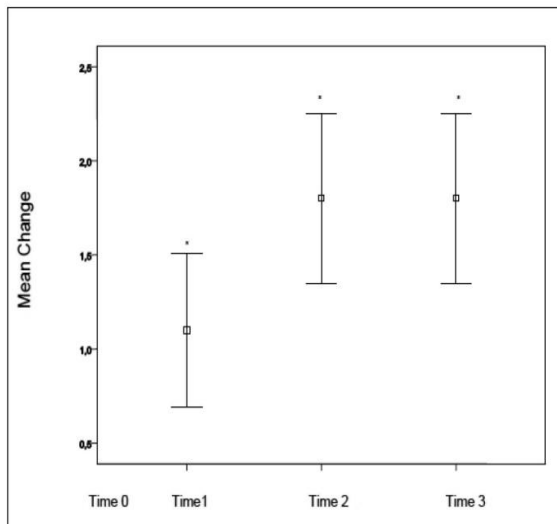


Fig. 3 - Change from baseline in Schirmer test. *Significantly different from baseline ($p < 0.001$).

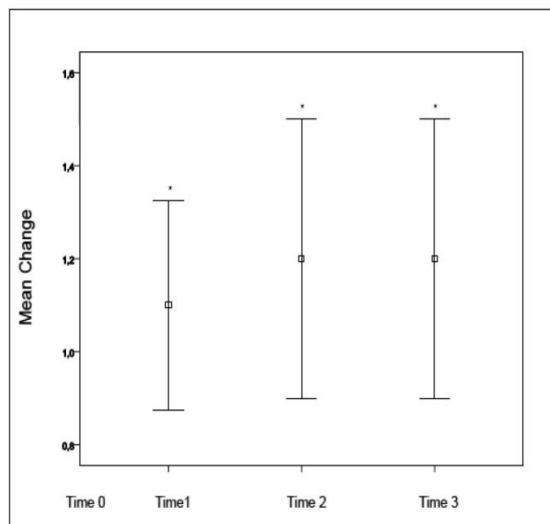


Fig. 4 - Change from baseline in tear break-up time. *Significantly different from baseline ($p < 0.001$).

However, no improvement could be demonstrated between time 0 and time 1 ($p=0.04$), between time 1 and time 2 ($p=0.034$), and between time 2 and time 3 ($p=0.042$), if multiple testing is taken into account (Fig. 5).

DISCUSSION

Tears play an important role in maintaining the anterior ocular surface. They participate in ocular defense mechanisms, provide nutrients, and remove some foreign matter and waste products. The tear film is also the most anterior refractive surface of the eye. The irregular thickness of the film causes local variations in power that are equivalent to higher-order wavefront aberrations (38).

Dry eye in FAP disease seems to be mediated by multiple mechanisms that probably reinforce each other. Low tear production by the main lacrimal glands and the accessory lacrimal glands has an important role, but inflammatory mechanisms induced by the FAP disease and by the dry eye disease itself are also important.

Topical cyclosporine has been shown to be very effective in dry eye disease of diverse etiology (39-42). Regardless of the initiating event or etiology, inflammation is usually a key factor in the maintenance of the disease. Inflammatory mediators promote apoptosis in the lacrimal gland and of the ocular surface epithelial cells, interfering with normal

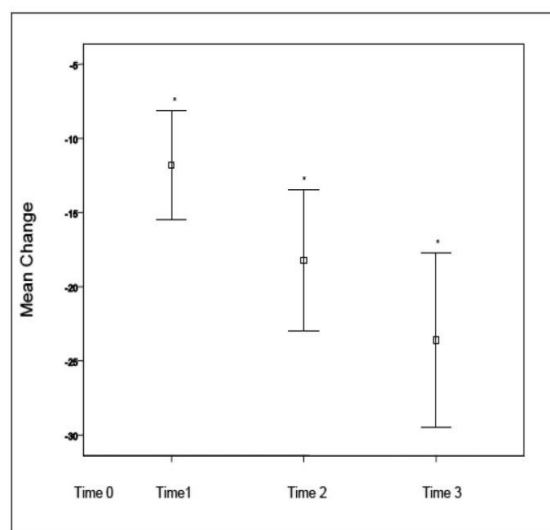


Fig. 5 - Change from baseline in Ocular Surface Disease Index. *Significantly different from baseline ($p=0.002$).

differentiation and causing lacrimal dysfunction (29). The use of ophthalmic topical cyclosporine has some advantages over topical corticotherapy, since it is not associated with local serious adverse effects, has a very low rate of systemic absorption, and its action reverses after treatment withdrawal (43). The known pharmacologic effects of ophthalmic topical cyclosporine are the result

Topical cyclosporine in FAP severe dry eye disease

of a reduction of activated T lymphocytes, apoptosis and proinflammatory cytokine production, and an increase in conjunctival epithelium goblet cell densities (29).

Although the efficacy of topical cyclosporine in severe dry eye has been widely demonstrated in several trials in recent years, the advantage of its use in patients already under treatment with oral cyclosporine for liver transplantation has been questioned. Our study, despite the small number of patients, was a prospective study, with careful sequential evaluation of signs and symptoms of dry eye disease in the course of 11 months.

Dry eye disease, sometimes severe, is very frequent in Portuguese patients with FAP and its natural history after liver transplantation is not precisely known. The only current treatments available are the use of artificial tears and of lacrimal plugs, which seem to have a limited effect in severe presentations of dry eye in patients with FAP.

This study shows that topical cyclosporine eyedrops have a good safety profile, confirming the results of previous studies in other diseases (24, 44, 45). In fact, topical cyclosporine has proven to be effective in the relief of symptoms, with both subjective and objective improvements. Improvement in the symptom score (OSDI), Schirmer test, TBUT, corneal staining score, and in the BCVA was demonstrated.

The corneal punctuate fluorescein staining score improvement is particularly relevant, because it represents a suppression of inflammatory processes, with corneal damage reduction and recovery of the integrity of the corneal epithelium. As expected, the greater improvement was between time 0 and time 1, with most of the recovery made during this period.

The BCVA also improved with the normalization of optical properties of the corneal surface. It seems there is no parallelism in the recovery of BCVA and the CPFS score, probably due to the longer time needed to improve the corneal stromal component of the keratopathy.

Improvement of the integrity of the corneal epithelium seems to have other effects besides improving the quality of the corneal optics (46, 47). Reduced local inflammation in the ocular surface facilitates the transmission of information to the lacrimal gland through the sensory and autonomic neural pathways, improves tear

production and composition, and, consequently, the TBUT and the Schirmer test results.

In our study, we used a Schirmer test without anesthesia and, although of small magnitude, an increase in tear production was found, mainly between time 0 and time 1, suggesting that the effect on aqueous production is more evident in the first 3 months. The same pattern of improvement was found in the TBUT.

The improvements of BCVA, TBUT, and in the Schirmer test can be interpreted as the result of a more favorable microenvironment with increased tear film stability, protecting ocular surface from environmental agents (48). As expected, subjective measures, like the OSDI score that we used, also improved. The greater improvement was noted at time 1, but at time 2 and time 3 the improvements were also important.

Maintaining an adequate production of tears and tear film integrity is very important for good visual function and quality of life in patients with FAP. This report, the first of its kind as far as the authors could ascertain, despite the small sample size, suggests a promising role for topical cyclosporine therapy in severe dry eye disease in liver transplanted patients with FAP, regardless of concomitant treatment with oral cyclosporin3.

The authors report no proprietary interest or financial support.

Address for correspondence:
Melo Beirão, MD
Serviço de Oftalmologia
Hospital de Santo António
Largo Prof. Abel Salazar, 2
4099-001 Porto
Portugal
bbeirao@iol.pt

REFERENCES

- Coimbra A, Andrade C. Familial amyloid polyneuropathy: an electron microscope study of the peripheral nerve in five cases. II. Nerve fibre changes. *Brain* 1971; 94: 207-12.
- Saraiva MJ. Molecular genetics of familial amyloidotic polyneuropathy. *J Peripher Nerv Syst* 1996; 1: 179-88.
- Saraiva MJ, Birken S, Costa PP, Goodman DS. Amyloid fibril protein in familial amyloidotic polyneuropathy, Portuguese type. Definition of molecular abnormality in transthyretin (prealbumin). *J Clin Invest* 1984; 74: 104-19.
- Monteiro JG, Martins AF, Figueira A, Saraiva MJ, Costa PP. Ocular changes in familial amyloidotic polyneuropathy with dense vitreous opacities. *Eye* 1991; 5: 99-105.
- Ando E, Ando Y, Okamura R, Uchino M, Ando M, Negi A. Ocular manifestations of familial amyloidotic polyneuropathy type I: long-term follow up. *Br J Ophthalmol* 1997; 81: 295-8.
- Sandgren O, Kjellgren D, Suhr OB. Ocular manifestations in liver transplant recipients with familial amyloid polyneuropathy. *Acta Ophthalmol* 2008; 86: 520-4.
- Perry HD. Dry eye disease: pathophysiology, classification, and diagnosis. *Am J Manag Care* 2008; 14(Suppl): S79-87.
- Nguyen DH, Vadlamudi V, Toshida H, Beuerman RW. Loss of parasympathetic innervation leads to sustained expression of pro-inflammatory genes in the rat lacrimal gland. *Auton Neurosci* 2006; 124: 81-9.
- Sousa MM, Cardoso I, Fernandes R, Guimarães A, Saraiva MJ. Deposition of transthyretin in early stages of familial amyloidotic polyneuropathy: evidence for toxicity of nonfibrillar aggregates. *Am J Pathol* 2001; 159: 1993-2000.
- Bucciantini M, Calloni G, Chiti F, et al. Prefibrillar amyloid protein aggregates share common features of cytotoxicity. *J Biol Chem* 2004; 279: 31374-82.
- Gumus K, Cavanagh DH. The role of inflammation and antiinflammation therapies in keratoconjunctivitis sicca. *Clin Ophthalmol* 2009; 3: 57-67.
- Behrens A, Doyle JJ, Stern L, et al; Dysfunctional tear syndrome study group. Dysfunctional tear syndrome: a Delphi approach to treatment recommendations. *Cornea* 2006; 25: 900-7.
- Bjerrum KB. Keratoconjunctivitis sicca and primary Sjögren's syndrome in a Danish population aged 30-60 years. *Acta Ophthalmol Scand* 1997; 75: 281-6.
- Schein OD, Muñoz B, Tielsch JM, Bandeen-Roche K, West S. Prevalence of dry eye among the elderly. *Am J Ophthalmol* 1997; 124: 723-8.
- Schaumburg DA, Sullivan DA, Buring JE, Dana MR. Prevalence of dry eye syndrome among US women. *Am J Ophthalmol* 2003; 136: 318-26.
- Lemp MA. Report of the National Eye Institute/Industry workshop on Clinical Trials in Dry Eyes. *CLAO J* 1995; 21: 221-32.
- Miljanovi B, Dana R, Sullivan DA, Schaumburg DA. Impact of dry eye syndrome on vision-related quality of life. *Am J Ophthalmol* 2007; 143: 409-15.
- Goto E, Yagi Y, Matsumoto Y, Tsubota K. Impaired functional visual acuity of dry eye patients. *Am J Ophthalmol* 2002; 133: 181-6.
- Lemp MA. Management of dry eye disease. *Am J Manag Care* 2008; 14(Suppl): S88-101.
- Kim TH, Kang JW, Kim KH, et al. Acupuncture for dry eye: a multicentre randomised controlled trial with active comparison intervention (artificial tear drop) using a mixed method approach protocol. *Trials* 2010; 11: 107.
- Asbell PA. Increasing importance of dry eye syndrome and the ideal artificial tear: consensus views from a roundtable discussion. *Curr Med Res Opin* 2006; 22: 2149-57.
- Taban M, Chen B, Perry JD. Update on punctal plugs. *Compr Ophthalmol Update* 2006; 7: 205-12, discussion 213-4.
- Management and therapy of dry eye disease: report of the Management and Therapy Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop (2007). *Ocul Surf* 2007; 5: 163-78.
- Stevenson D, Tauber J, Reis BL. Efficacy and safety of cyclosporin A ophthalmic emulsion in the treatment of moderate-to-severe dry eye disease: a dose-ranging, randomized trial. The Cyclosporin A Phase 2 Study Group. *Ophthalmology* 2000; 107: 967-74.
- Sall K, Stevenson OD, Mundorf TK, Reis BL. Two multicenter, randomized studies of the efficacy and safety of cyclosporine ophthalmic emulsion in moderate to severe dry eye disease. CsA Phase 3 Study Group. *Ophthalmology* 2000; 107: 631-9.
- Roberts CW, Carniglia PE, Brazzo BG. Comparison of topical cyclosporine, punctal occlusion, and a combination for the treatment of dry eye. *Cornea* 2007; 26: 805-9.
- Borel JF, Feurer C, Gubler HU, Stähelin H. Biological effects of cyclosporin A: a new antilymphocytic agent. *Agents Actions* 1976; 6: 468-75.
- Dartt DA. Neural regulation of lacrimal gland secretory processes: relevance in dry eye diseases. *Prog Retin Eye Res* 2009; 28: 155-77.
- Donnenfeld E, Pflugfelder SC. Topical ophthalmic cyclosporine: pharmacology and clinical uses. *Surv Ophthalmol* 2009; 54: 321-38.
- Nussenblatt RB, Palestine AG. Cyclosporine: immunology, pharmacology and therapeutic uses. *Surv Ophthalmol* 1986; 31: 159-69.
- Starzl TE, Iwatsuki S, Klintmalm G, et al. Liver transplantation, 1980, with particular reference to cyclosporin-A. *Transplant Proc* 1981; 13: 281-5.
- Brown MM, Brown GC, Brown HC, Peet J, Roth Z. Value-based medicine, comparative effectiveness, and cost-effectiveness analysis of topical cyclosporine for the treatment of dry eye syndrome. *Arch Ophthalmol* 2009; 127: 146-52.
- Perry HD, Donnenfeld ED, Kanellopoulos AJ, Grossman GA. Topical cyclosporin A in the management of postkeratoplasty glaucoma. *Cornea* 1997; 16: 284-8.
- Belin MW, Bouchard CS, Frantz S, Chmielinska J. Topical

Topical cyclosporine in FAP severe dry eye disease

- cyclosporine in high-risk corneal transplants. *Ophthalmology* 1989; 96: 1144-50.
35. Serin D, Karslo lu S, Kyan A, Alagöz G. A simple approach to the repeatability of the Schirmer test without anesthesia: eyes open or closed? *Cornea* 2007; 26: 903-6.
 36. Bron AJ, Evans VE, Smith JA. Grading of corneal and conjunctival staining in the context of other dry eye tests. *Cornea* 2003; 22: 640-50.
 37. Ozcura F, Aydin S, Helvaci MR. Ocular surface disease index for the diagnosis of dry eye syndrome. *Ocul Immunol Inflamm* 2007; 15: 389-93.
 38. Montés-Micó R. Role of the tear film in the optical quality of the human eye. *J Cataract Refract Surg* 2007; 33: 1631-5.
 39. Ogawa Y, Okamoto S, Kuwana M, et al. Successful treatment of dry eye in two patients with chronic graft-versus-host disease with systemic administration of FK506 and corticosteroids. *Cornea* 2001; 20: 430-4.
 40. Fox RI. Sjögren's syndrome: evolving therapies. *Expert Opin Investig Drugs* 2003; 12: 247-54.
 41. Salib GM, McDonald MB, Smolek M. Safety and efficacy of cyclosporine 0.05% drops versus unpreserved artificial tears in dry-eye patients having laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg* 2006; 32: 772-8.
 42. Rubin M, Rao SN. Efficacy of topical cyclosporin 0.05% in the treatment of posterior blepharitis. *J Ocul Pharmacol Ther* 2006; 22: 47-53.
 43. Kymionis GD, Bouzoukis DI, Diakonis VF, Siganos C. Treatment of chronic dry eye: focus on cyclosporine. *Clin Ophthalmol* 2008; 2: 829-36.
 44. Laibovitz RA, Solch S, Andriano K, O'Connell M, Silverman MH. Pilot trial of cyclosporine 1% ophthalmic ointment in the treatment of keratoconjunctivitis sicca. *Cornea* 1993; 12: 315-23.
 45. Gündüz K, Ozdemir O. Topical cyclosporin treatment of keratoconjunctivitis sicca in secondary Sjögren's syndrome. *Acta Ophthalmol* 1994; 72: 438-42.
 46. Stern ME, Beuerman RW, Fox RI, Gao J, Mircheff AK, Pflugfelder SC. The pathology of dry eye: the interaction between the ocular surface and lacrimal glands. *Cornea* 1998; 17: 584-9.
 47. Wilson SE, Liang Q, Kim WJ. Lacrimal gland HGF, KGF, and EGF mRNA levels increase after corneal epithelial wounding. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999; 40: 2185-90.
 48. Moon JW, Lee HJ, Shin KC, Wee WR, Lee JH, Kim MK. Short term effects of topical cyclosporine and viscoelastic on the ocular surfaces in patients with dry eye. *Korean J Ophthalmol* 2007; 21: 189-94.

THE USE OF INTRAVITREAL RANIBIZUMAB TO TREAT NEOVASCULAR GLAUCOMA BECAUSE OF RETINAL AMYLOID ANGIOPATHY IN FAMILIAL AMYLOIDOSIS TRANSTHYRETIN V30M RELATED

Nuno M. Beirão, MD,*† Vasco Miranda, MD,* Idalina Beirão, MD, PhD,†‡
Paulo P. Costa, MD, PhD,‡§ Paulo Torres, MD, PhD*‡

Purpose: The purpose of this study to report a patient with amyloidotic angiopathy and neovascular glaucoma who was treated with intravitreal injection of ranibizumab followed by laser photocoagulation.

Methods: A 52-year-old liver-transplanted woman with familial amyloidotic polyneuropathy presented with unilateral rubeosis iridis and neovascular glaucoma. A complete ocular examination and fluorescein and indocyanine green angiography were performed.

Results: Best-corrected visual acuity before injection was 0.05 (Snellen) in the left eye, and intraocular pressure was 42 mmHg. Fluorescein angiography showed vascular occlusion in the retinal periphery, focal staining of vessels, and microaneurysms. Indocyanine green angiography showed hyperfluorescent spots alongside the choroidal veins. Two days after receiving intravitreal injection of ranibizumab, the clinical picture regressed. The diagnosis of retinal amyloid angiopathy was made, and a peripheral retinal laser photocoagulation was done. The final best-corrected visual acuity after 2 years of follow-up was 0.4 (Snellen) in the left eye.

Conclusion: Intravitreal injections of ranibizumab should be evaluated for a potential role on the treatment of amyloid angiopathy neovascular glaucoma. Careful retinal periphery examination should be included in the ophthalmologic examination of all familial amyloidotic polyneuropathy patients.

RETINAL CASES & BRIEF REPORTS 7:114–116, 2013

*From the *Serviço de Oftalmologia, and †Unidade Clínica de Paramiloidose, Hospital de Santo António, Porto, Portugal; ‡UMIB, ICBAS, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Porto, Portugal; and §INSA Dr. Ricardo Jorge, Porto, Portugal.*

Familial amyloidotic polyneuropathy (FAP) is the most common form of hereditary amyloidosis caused by extracellular deposition of variants of transthyretin (TTR) in several tissues, including the eye. In Portuguese type (Type I), the variant TTR has a substitution of methionine for valine at Position

30 (TTR V30M). Transthyretin is mainly produced by the liver, and liver transplantation has become over the last 20 years the treatment of choice for this lethal disease. However, despite liver transplantation, the intraocular production of mutant TTR by the pigment epithelium remains unchanged.¹ The increase in survival of these patients with liver transplantation² seems to be associated with an increase in ocular complications.^{3,4} Vascular abnormalities including rubeotic glaucoma and retinal neovascularization^{4–7} have been observed, usually with catastrophic consequences for the patients' visual acuity.

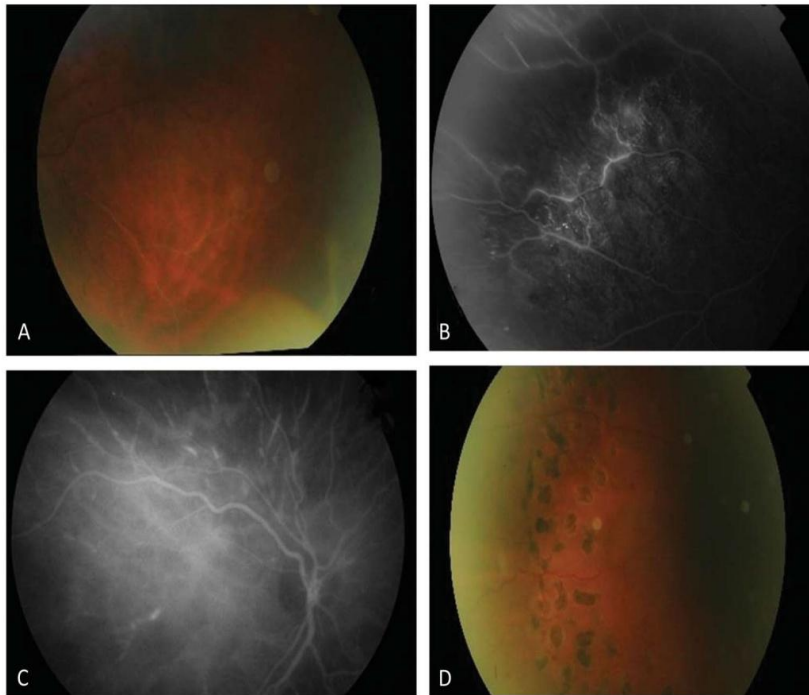


Fig. 1. A. Retinography: sheathing of vessels. B. Fluorescein angiography: vascular closure, microaneurysms, vascular remodeling, and focal staining. C. Indocyanine green angiography: hyperfluorescent spots alongside the choroidal veins. D. Retinography: retinal periphery photocoagulated.

Vascular endothelial growth factor is the most thoroughly studied angiogenic peptide implicated in ischemic retinal disease and neovascular glaucoma. Ranibizumab is an antiangiogenic drug that has been used in therapeutics of vascular diseases, particularly venous occlusion,⁸ diabetic retinopathy,⁹ and choroidal neovascularization¹⁰ with encouraging results.

We report a case of a patient with familial amyloidosis transthyretin V30M related (FAP ATTR V30M) presenting with a sudden loss of vision associated with rubeosis iridis and neovascular glaucoma, which was successfully treated with intravitreal ranibizumab and argon laser photocoagulation.

Case Report

A 52-year-old woman with clinical and genetic diagnosis of FAP, associated with ATTR V30M mutation, was submitted to bilateral vitrectomy for vitreous opacity removal. She underwent orthotopic liver transplantation at the age of 41 years, 8 years after clinical symptoms presented. She was immunosuppressed with cyclosporine, prednisolone, and mycophenolate mofetil. Her blood pressure was always in normal range in the last years. She was admitted to the Emergency Department of our hospital with left eye pain and decreased visual acuity. Anterior segment and fundus examination revealed severe dry eye with keratitis, corneal edema,

iris neovascularization, anterior capsule opacification of the lens, clear vitreous cavity, and difficult visualization of the retina. Best-corrected visual acuity was 0.05 (Snellen equivalent), and the intraocular pressure was 42 mmHg. We diagnosed neovascular glaucoma and prescribed topical timolol, brimonidine, brinzolamide, latanoprost, and artificial tears. At the following day, intraocular pressure remained high (36 mmHg) and retinal details remained difficult to see because of keratitis and corneal edema. Intravitreal ranibizumab was injected, and after 48 hours, the rubeosis iridis disappeared, intraocular pressure lowered to 14 mmHg, and the corneal edema reduced. On the third day, retinal imaging (retinography, fluorescein angiography, and indocyanine green angiography; Figure 1, A–C) confirmed the diagnosis of retinal amyloidotic angiopathy in both eyes. Fluorescein angiography showed peripheral retinal vascular closure, microaneurysms, and focal staining of the vessels not consistently associated with the sheathing. The posterior pole had no significant alterations. Indocyanine green angiography revealed choroidal hyperfluorescent spots alongside the choroidal veins, possibly because of amyloid deposition. The ischemic retina was submitted to argon laser photocoagulation to prevent the redevelopment of new vessels (Figure 1D). The final best-corrected visual acuity was 0.4 in the left eye and 0.6 in the right eye (Snellen equivalent), with improvement of the keratitis because of topical cyclosporine treatment.

After 2 years of follow-up, the visual acuity remains stable with an intraocular pressure lower than 18 mmHg under topical treatment with timolol. No visible new vessels were detected in the iris or at the retina.

Discussion

This is the first reported case of the use of ranibizumab in the retinal amyloidotic angiopathy

There are no conflicts of interest to declare.

Reprint requests: Nuno M. Beirão, MD, Serviço de Oftalmologia, Hospital de Santo António, Largo Prof. Abel Salazar, 2 4099-001 Porto, Portugal; e-mail: bbeirao@iol.pt

neovascular glaucoma. It has been known for several years that in FAP, disease ocular vascular complications may appear,⁶ namely, thrombosis of the central retinal vein, choroidal vascular lesions, and peripheral retina ischemia. It seems that like in other cases described before, neovascular glaucoma occurred after vitrectomy, probably because of freer circulation of amyloid protofilaments that eventually obstruct the vessels. The use of ranibizumab was supported by the work of O'Hearn,¹¹ who found high vitreous vascular endothelial growth factor levels in 3 eyes of 2 patients with FAP associated to ATTR Glu54Gly mutation. Choroidal vascular lesions have been previously detected in FAP caused by amyloidogenic TTR Y114C but are considered rare in FAP ATTR V30M. The significance of the choroidal vessel involvement remains uncertain.

We suggest that the ophthalmologic examination of FAP patients includes a detailed observation of the retinal periphery and a gonioscopy and, if necessary, additional fluorescein and indocyanine green angiographies to detect early changes in ocular retinal vessels. It seems that it is specially pertinent if the eye has been previously vitrectomized. Peripheral photocoagulation and ranibizumab should be considered for the treatment of neovascular glaucoma in retinal amyloidotic angiopathy.

Key words: amyloid retinopathy, familial amyloidosis ATTR V30M, neovascular glaucoma, ranibizumab, VEGF.

References

1. Haraoka K, Ando Y, Ando E, et al. Presence of variant transthyretin in aqueous humor of a patient with familial amyloidotic polyneuropathy after liver transplantation. *Amyloid* 2002;9:247–251.
2. Suhr OB, Ericzon BG, Friman S. Long-term follow-up of survival of liver transplant recipients with familial amyloid polyneuropathy (Portuguese type). *Liver Transpl* 2002;8:787–794.
3. Sandgren O, Kjellgren D, Suhr OB. Ocular manifestations in liver transplant recipients with familial amyloid polyneuropathy. *Acta Ophthalmol* 2008;86:520–524.
4. Hara R, Kawaji T, Ando E, et al. Impact of liver transplantation on transthyretin-related ocular amyloidosis in Japanese patients. *Arch Ophthalmol* 2010;128:206–210.
5. Ando E, Ando Y, Maruoka S, et al. Ocular microangiopathy in familial amyloidotic polyneuropathy, type I. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1992;230:1–5.
6. Dunlop AA, Graham SL. Familial amyloidotic polyneuropathy presenting with rubeotic glaucoma. *Clin Experiment Ophthalmol* 2002;30:300–302.
7. Savage DJ, Mango CA, Streeten BW. Amyloidosis of the vitreous. Fluorescein angiographic findings and association with neovascularization. *Arch Ophthalmol* 1982;100:1776–1779.
8. Rouvas A, Petrou P, Ntouraki A, et al. Intravitreal ranibizumab (Lucentis) for branch retinal vein occlusion-induced macular edema: nine-month results of a prospective study. *Retina* 2010;30:893–902.
9. Jardeleza MS, Miller JW. Review of anti-VEGF therapy in proliferative diabetic retinopathy. *Semin Ophthalmol* 2009;24:87–92.
10. Silva RM, Ruiz-Moreno JM, Rosa P, et al. Intravitreal ranibizumab for myopic choroidal neovascularization: 12-month results. *Retina* 2010;30:407–412.
11. O'Hearn TM, Fawzi A, He S, et al. Early onset vitreous amyloidosis in familial amyloidotic polyneuropathy with a transthyretin Glu54Gly mutation is associated with elevated vitreous VEGF. *Br J Ophthalmol* 2007;12:1607–1609.

Introdução

Descrição das alterações oftalmológicas da PAF na população portuguesa

Impacto do transplante hepático na oculopatia

Descrição de outras alterações: Presbiopia e Sensibilidade ao Contraste

Eritropoietina e neuroproteção no glaucoma

Terapêutica da oculopatia da PAF

VII → Alterações oculares nos recetores de fígado PAF e risco de oculopatia

Discussão

Conclusões

Perspetivas futuras

VII → Alterações oculares nos recetores de fígado PAF e risco de oculopatia

Beirão M, Matos E, Beirão I, Pinho-Costa P, Torres P. No ocular involvement in familial amyloidotic polyneuropathy ATTR V30M domino liver recipients. *Transpl Int*. 2012 Jun;25(6):646-51.

Beirão JM, Moreira LV, Lacerda PC, Vitorino RP, Beirão IB, Torres PA, Costa PP. Inability of mutant transthyretin V30M to cross the blood-eye barrier. *Transplantation*. 2012 Oct 27; 94(8):e54-6.

RESUMO

Em muitos centros internacionais de transplantação hepática, o transplante em dominó ou sequencial é um procedimento estabelecido que permite aumentar o número de fígados disponíveis para transplante. Os fígados explantados dos doentes PAF submetidos a transplante hepático, foram usados de um modo crescente em todo o mundo.

O atingimento oftalmológico na PAF é bem conhecido e algumas manifestações podem ameaçar gravemente a visão. Foram descritos vários casos de aparecimento de amiloidose *de novo*, com neuropatia, em recetores de fígados PAF. O objetivo deste trabalho foi avaliar o risco de desenvolvimento de manifestações oftalmológicas, nos recetores de fígado PAF. Para este estudo, selecionamos 44 doentes cirróticos submetidos a transplantação hepática, com uma média de *follow-up* de cerca de 6 anos. Vinte e dois receberam o fígado de um dador PAF e 22 receberam um fígado de um dador cadavérico não PAF e ambos os grupos eram estatisticamente semelhantes para a idade e o género.

Foi efetuado exame oftalmológico de rotina com particular atenção à deposição de amiloide no segmento anterior e vítreo, avaliação da retina periférica, realizados testes de função lacrimal (teste de Schirmer e tempo de rotura lacrimal) e pupilometria (estática e dinâmica).

Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos, em todos os parâmetros oftalmológicos estudados. Não foram encontradas quaisquer manifestações oftalmológicas relacionadas com a PAF, após uma média de 6 anos de seguimento.

A capacidade da TTR mutante atravessar a barreira hemato-cerebral e barreira hemato-nervo foi documentada, mas não havia dados conclusivos sobre a capacidade de atravessar a barreira hemato-ocular.

Foi recolhido humor aquoso de um doente recetor fígado PAF de 63 anos, com transplante hepático há 2 anos e a pesquisa de TTR mutante realizada através de espectrometria de massa e de *Western blot*. Apenas foi detetada TTR não mutante demonstrando a não passagem através da barreira hemato-ocular da TTR mutante. Assim o risco de doença endocular PAF pode ser considerado negligenciável nos doentes recetores de fígados PAF.

ORIGINAL ARTICLE

No ocular involvement in familial amyloidotic polyneuropathy ATTR V30M domino liver recipients

Melo Beirão,^{1,2} Eduarda Matos,³ Idalina Beirão,^{2,3} Paulo Pinho-Costa^{3,4} and Paulo Torres^{1,3}

1 Ophthalmology, Hospital de Santo António, Porto, Portugal

2 Unidade Clínica de Paramiloidose, Hospital de Santo António, Porto, Portugal

3 UMIB, ICBAS, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Porto, Portugal

4 INSA Dr. Ricardo Jorge, Porto, Portugal

Keywords

amyloid, domino, familial amyloidotic polyneuropathy, liver transplantation, ocular, sequential.

Correspondence

Melo-Beirão, Serviço de Oftalmologia, Hospital de Santo António, Largo Prof. Abel Salazar, 2 4099-001 Porto, Portugal.
Tel.: + 351 227 127 095;
fax: + 351 226 066 106;
e-mail: bbeirao@iol.pt

Conflict of Interest

The authors of this manuscript have no conflicts of interest to disclose.

Received: 1 December 2011

Revision requested: 15 January 2012

Accepted: 27 February 2012

Published online: 22 March 2012

doi:10.1111/j.1432-2277.2012.01467.x

Summary

In many transplantation centers domino liver transplantation is an established procedure, increasing the number of available liver grafts. Increasingly, grafts from familial amyloidotic polyneuropathy (FAP) patients are used. Ocular involvement is a well known manifestation of FAP, and can be vision-threatening. The aim of this study was to evaluate the risk of development of familial amyloidotic polyneuropathy ocular manifestations in domino liver recipients. Forty-four cirrhotic patients submitted to liver transplantation were studied, with an average of 6 years of follow up after the procedure. Twenty two patients had received a liver from a FAP donor (Group 1) and 22 had received a liver from a non-FAP cadaveric donor (Group 2). Both groups were similar for mean age and gender. Routine ophthalmological examinations with particular attention to amyloid deposition in the anterior segment and vitreous, peripheral retina state, lacrimal functions tests (Schirmer and tear break-up time) and pupillometry (dynamic and static) were performed. No statistically significant differences were observed in all studied ophthalmic parameters between the two groups. No FAP related ophthalmic manifestations were detected after 6 years of domino liver transplantation, but further prospective regular ophthalmological examinations are necessary to detect the eventual development of late ocular manifestations.

Introduction

Familial amyloid polyneuropathy (FAP) is an inherited, autosomal dominant, multisystemic amyloidosis. The Portuguese type of FAP, first described by Andrade in 1952, is caused by a point mutation in the transthyretin (TTR) gene with subsequent production of a mutant protein in which a valine at position 30 has been replaced by methionine (ATTR V30M) [1]. It is the most common variety of hereditary amyloidosis worldwide and its main clinical expression is a progressive autonomic and peripheral neuropathy [2,3]. Since near 90% of plasma TTR is produced by the liver [4] and the remainder produced by the choroid plexus and the retinal pigmented epithelium [5], it was expected that liver transplantation would abol-

ish the mutant TTR production and halt the progression of the disease. In 1990, Holmgren *et al.* reported the first orthotopic liver transplantation (OLT) in a FAP patient [6]. Presently, this is the only treatment that seems to alter the natural course of the disease, and significantly palliates many underlying symptoms [7,8].

Liver transplantation is a well-established treatment for hepatic cancers, end-stage liver disease and some metabolic diseases. The shortage of donor livers is a limiting factor in the expansion of OLT [9] and many patients accepted to waiting lists die before transplantation. To increase the donor liver pool alternatives such as living donor liver grafts, increased use of marginal donors, split liver grafts from deceased donors and domino liver grafts from patients with metabolic liver disease undergoing

liver transplantation are currently used [10]. The first domino liver transplantation using a liver from an FAP patient was performed in Portugal in 1995 [11], but today livers from FAP patients and patients with other disorders [12,13] are regularly used as domino grafts [14–17]. In liver transplantation center at Centro Hospitalar do Porto – Hospital Santo Antonio, over 200 patients underwent domino liver transplantation due to liver cirrhosis (alcoholic and viral) and liver malignancies.

Several studies have reported the existence of ocular manifestations of the disease in FAP patients, some with disastrous consequences for the patient's vision. The most frequent are abnormal conjunctival vessels, *keratoconjunctivitis sicca*, pupillary abnormalities, anterior lens capsule opacification, glaucoma, vitreous opacities and vascular retinal abnormalities. Endocular complications have been mainly attributed to endocular production of mutant TTR [18–21], a hypothesis supported by the observation that ocular amyloid deposition can occur 4–5 years after liver transplantation. *De novo* amyloidosis in FAP domino liver recipients has also been described [22,23] and although some authors state that plasma TTR does not cross the pigment epithelium to the retina [24,25], there is no conclusive evidence about the passage of TTR through the blood–eye barrier to the vitreous/aqueous humor. Additionally, there is still much to elucidate relative to the fibrillogenesis pathway and kinetics of ocular deposition of TTR amyloid.

The possibility of *de novo* amyloid deposition in recipients of livers from FAP patients remains a serious concern [19] and longitudinal studies are required to carefully evaluate the risk of ocular manifestations due to 'acquired' FAP in domino liver recipients. The aim of this study was to evaluate the long-term ocular consequences of domino liver transplantation using amyloidotic polyneuropathy grafts, particularly the occurrence of *de novo* ocular amyloidosis.

Patients and methods

Patients

Forty-four randomly selected non-consecutive liver transplanted patients with previous alcoholic cirrhosis were studied. Twenty two patients received a FAP ATTR V30M liver graft (Group 1) and 22 received a non-FAP cadaveric graft (Group 2). Both groups had similar gender distribution (18 men and 4 women in each group), mean age (58.6 ± 7.3 years vs. 56.4 ± 8.5 years, $P = 0.32$) and time of follow-up after liver transplantation (6.1 ± 1.8 years vs. 6.5 ± 2.8 years, $P = 0.44$) (Table 1). None of the patients studied had signs or symptoms of FAP and the immunosuppressive therapy was similar between groups. Three patients from Group 1 and 2 patients from Group 2 had diabetes mellitus. Four patients from Group

Table 1. Characteristics of the patients.

	Patients	Age (years-old)	Gender (M/F)	Time of OLT (years)	Eyes (n)
Group 1	22	58.6 ± 7.3	18/4	6.0 ± 1.8	44
Group 2	22	56.4 ± 8.5	18/4	6.5 ± 2.8	44

1 and 5 of Group 2 had arterial hypertension. Patients under therapy with potential effects on sympathetic or parasympathetic pupillary function or submitted to previous ocular surgery were excluded.

The study was approved by the Ethic Committee of Centro Hospitalar do Porto, and informed consent was obtained from all patients according to the declarations of Helsinki 2000 and Istanbul 2006.

Methods

All patients were submitted to ophthalmic evaluation in the same room, with the same equipment and by the same senior ophthalmologist at the Ophthalmology Department of Hospital Santo Antonio – Centro Hospitalar do Porto. The examinations were performed between 9:00 AM and 1:00 PM.

The near vision was evaluated as previously described by the authors [26].

Slit lamp examination evaluated the presence of conjunctival microaneurysms, opacification of the anterior capsule of the lens and the state of the iris (presence of amyloid deposits at the pupillary border and irregularity in the pupillary border).

Lacrimal function was evaluated using a Schirmer test without anesthesia and tear break-up time (TBUT) testing. Schirmer test was performed by placing a small filter paper strip (Schirmer-Plus manuf. by Dina-Hitex spol s r.o., Czech Republic) in the temporal one-third of the lower eyelid and closing eyes for 5 min. The paper was then removed and the wet part of the strip was measured in millimeters. To measure TBUT, an eyedrop of Fluotest® (fluorescein 2.5 mg/dL + hydrochloride oxybuprocaine 4 mg/dL – Fort Worth, TX, USA) was applied to the inferior conjunctiva. The precorneal tear film was examined with a slit lamp cobalt blue filter and the elapsed time, in seconds, was recorded before the initial breakup, rupture of the tear film or formation of dry spots.

Glaucoma was identified by the presence of optic nerve and visual field abnormalities associated with an intraocular pressure level equal to, or higher than 22 mmHg, or was inferred from ongoing treatment with ocular hypotensive eyedrops.

To evaluate the vitreous and the retina status, the pupil was dilated with one drop of topical tropicamide at 1%

and observation carried out after 30 min with a non-contact 90 D lens.

Pupillometry, or pupillography, are very useful non-invasive tests to study the autonomic nervous system function, with the advantage of requiring minimal patient cooperation [27]. The pupil diameters under standard light conditions [28] and several dynamic parameters are well correlated with the autonomic function and neuropathy [29]. Pupillometry has been proposed as a simple and sensitive tool to detect subclinical autonomic dysfunction [30,31]. To evaluate the differences in pupillary autonomic neuropathy between the two groups, the pupil reflexes were measured with a Pupillometer (Metrovision® Pérenchies, France) [27] in twenty eyes from each group. It uses invisible near infra-red illumination (950 nm), with an accuracy of measurement of pupil diameter of 0.1 mm and a sampling frequency of 30 Hz. Static and dynamic pupillometry was carried out after 30 min of dark-adaptation. Static pupillometry evaluated the diameter of each pupil under scotopic (0.1 cd/m²), mesopic (1 cd/m²), low photopic (10 cd/m²) and high photopic (100 cd/m²) conditions. Dynamic pupillometry was performed after a standardized light stimulus from a light emitting diode with a duration of 200 ms and a brightness of 10⁴ cd/m². The parameters evaluated as reflecting sympathetic and parasympathetic pupillary modulation were: light reflex amplitude (mm), latency of contraction (ms), duration of contraction (ms), velocity of contraction (mm/s), latency of dilatation (ms), duration of dilatation (ms) and velocity of dilatation (mm/s) [32,33].

Statistical analysis was performed with the PASW 18 statistical software package. Normally distributed data are presented as mean \pm standard deviation. Group comparisons used the Student's *t*-test or a chi-square test, as appropriate. A *P* value < 0.05 was regarded as statically significant.

Results

The results are summarized in Table 2. None of the evaluated patients, domino or non-domino liver recipients

presented conjunctival microaneurisms, glaucoma, vitreous amyloidosis or visible amyloidotic retinal angiopathy. Neither visible amyloid deposition on the anterior surface of the lens or on the iris nor scalloped iris was observed in any patient.

The average add power in group 1 was 1.84 ± 0.44 diopters and in group 2 was 1.89 ± 0.49 D, a non statistically significant difference (*P* = 0.69).

Also, no statistical difference was observed in mean Schirmer test results between groups (12.54 ± 6.34 mm in Group 1 and 14.19 ± 7.11 mm in Group 2, *P* = 0.28). Mean TBUT was also similar in both groups, 4.73 ± 2.23 s (Group 1) vs. 5.54 ± 2.86 s in (Group 2), *P* = 0.19.

The results of pupillometry are presented in Table 3. No significant differences were observed in parameters of static and dynamic pupillometry. In all standard conditions of light, the difference in pupil diameters between groups was not significant. Dynamic parameters such as sympathetic parameters (diameter, velocity of dilation, latency of contraction) or parasympathetic parameters (reflex amplitude, constriction velocity, latency of dilation) showed no statistically significant differences.

Discussion

The first report of domino organ transplantation described the reuse of a heart graft taken from a patient undergoing heart-lung transplantation [34]. A similar procedure was described by Moreno *et al.*, who referred a case where the liver taken from a liver recipient who suffered brain death was reused [35].

Livers explanted from FAP ATTR V30M patients have normal function, except for the production of an amyloidogenic mutant TTR. Initial estimates of the risk of disease transfer were based on the natural course of FAP disease. The age of onset of FAP ATTR V30M ranges from the 20 s to early 40 s, and the progression of the disease takes 15 years until death supervenes [13]. It was expected that liver grafts from FAP patients would function in recipients without amyloid deposition for a long period of

	Group 1	Group 2	
Near vision (add power – diopters)	1.84 ± 0.44 D	1.89 ± 0.49 D	<i>P</i> = 0.69
Conjunctival microaneurisms	0	0	
Amyloid deposition (lens/iris)	0/0	0/0	
Pupillary irregularity border	0	0	
Lacrimal function			
Schirmer test (mm)	12.54 ± 6.34	14.19 ± 7.11	<i>P</i> = 0.28
TBUT (s)	4.73 ± 2.23	5.54 ± 2.86	<i>P</i> = 0.19
Glaucoma	0	0	
Vitreous amyloid	0	0	
Amyloidotic retinopathy	0	0	

Table 2. Incidence of ocular manifestations.

Table 3. Static and dynamic pupillometry.

	Group 1	Group 2	
Scotopic (mm)	4.35 ± 0.86	4.14 ± 0.62	<i>P</i> = 0.79
Mesopic (mm)	2.93 ± 0.52	2.95 ± 0.58	<i>P</i> = 0.95
Photopic low (mm)	2.25 ± 0.42	2.35 ± 0.47	<i>P</i> = 0.55
Photopic high (mm)	1.87 ± 0.31	1.96 ± 0.33	<i>P</i> = 0.43
Reflex amplitude (mm)	1.65 ± 0.35	1.53 ± 0.29	<i>P</i> = 0.29
Latency of contraction (ms)	353.53 ± 32.24	357.77 ± 28.22	<i>P</i> = 0.69
Duration of contraction (ms)	650.92 ± 72.53	645.47 ± 75.91	<i>P</i> = 0.83
Velocity of contraction (mm/s)	4.79 ± 0.78	4.42 ± 0.97	<i>P</i> = 0.23
Latency of dilation (ms)	997.37 ± 71.25	1002.20 ± 72.79	<i>P</i> = 0.85
Duration of dilation (ms)	1471.89 ± 84.84	1487.73 ± 77.27	<i>P</i> = 0.58
Velocity of dilation (mm/s)	1.66 ± 0.27	1.55 ± 0.35	<i>P</i> = 0.26

time. With careful selection of candidates it seemed a reasonable option to use livers from FAP patients to transplant patients with a short life expectancy.

After several reported cases of *de novo* amyloidosis, it is now evident that disease transfer occurs after domino liver transplantation. In 2005 Stangou *et al.* [36] published the first case of FAP symptoms in a domino liver recipient 8 years after liver transplantation, indicating that amyloid deposition or FAP symptoms appeared in domino recipients much sooner than expected. There is a possibility of accelerated fibrillogenesis in adults due to the enhancement of several mechanisms involved in amyloid formation and/or to the downregulation of inhibitory pathways [19]. The earlier than expected appearance of disease after domino liver transplantation could be associated with the complex post transplantation inflammatory and infectious status, with several rejection episodes. Moreover, surgical trauma, previous disease damage and immunosuppression could also trigger the formation of amyloid [37]. Another possible cause to the premature development of the disease in domino liver recipients is an enhanced deposition of mutant TTR in a favourable environment characterised by the presence of wild-type TTR deposits.

In spite of the demonstration of the passage of mutant transthyretin through the blood–nerve barrier [19] and through the blood–cerebrospinal barrier [38], no conclusive data exists about the passage through the blood–ocular barrier.

In FAP, endocular complications are the most feared ocular changes, that may lead to permanent blindness. After 6 years of liver transplantation, no evidence has been found of amyloid deposition in the anterior capsule of the lens or in the iris, scalloped iris, vitreous amyloid, amyloidotic retinal angiopathy or glaucoma. This could be due to the inability of the mutant TTR to cross the blood–eye barrier in significant amounts, insufficient to cause detectable changes, or to limited time of follow-up. A longer follow-up of these patients is needed to detect

possible late ophthalmic complications caused by continuous systemic production of mutant TTR. However, for now, it seems that there is no risk of amyloidotic oculopathy in FAP ATTR V30M liver recipients.

All patients evaluated in this study were transplanted due to end-stage alcoholic liver disease. In cirrhotic patients, autonomic dysfunction is very frequent, but its pathogenesis remains poorly understood [39]. It is characterized by an autonomic nervous system imbalance: a relatively decreased parasympathetic activity and increased sympathetic tone [39–43]. The patients' age, the waiting time for liver transplantation and the age of onset of liver disease were similar in both groups, variables that could possibly change the autonomic balance. All studied parameters related to autonomic dysfunction such as Schirmer test, TBUT and static and dynamic pupillometry did not present statistically significant differences between the two groups, suggesting a similar evolution of autonomic changes, not related with the production of mutant TTR. However, further studies with longer follow-up are necessary to detect possible autonomic changes in these liver transplanted patients.

Assaying the presence or absence of mutant TTR in the aqueous humor, and/or vitreous, in these patients, will allow us to determine if the blood–eye barrier effectively prevents, or not, the passage into the eye of the mutant TTR produced by the FAP liver. It is important to remember, however, that even in the absence of TTR transport through the blood–eye barrier, autonomic ocular manifestations can still occur since they are independent of that barrier function.

We only evaluated ATTR V30M liver transplant recipients. Other TTR mutants have diverse amyloidogenic potentials. It is possible that the risk of inducing *de novo* amyloidosis is different when other TTR mutations are present.

Patients with end-stage hepatic disease with only a few months of life expectancy are the usual candidates for domino liver transplantation. The use of livers from FAP

patients allows the treatment of two patients with a single cadaveric donor, and increases the survival and quality of life of patients with end-stage liver disease. Domino liver transplantation has proven its value, especially, in northern Portugal, where the high proportion of FAP patients on the waiting list for liver transplantation compounds a serious shortage of donor livers [13]. The emergence of *de novo* amyloidosis mandates lifetime screening for FAP disease symptoms in these patients. On the other hand, ocular manifestations, if they occur, are probably very late in life and do not represent a contraindication to domino liver transplantation.

Authorship

MB: designed study; performed study, collected data, wrote paper. EM: analysed data. IB and PPC: wrote paper. PT: designed study.

Funding

No funding.

References

- Costa PP, Figueira AS, Bravo FR. Amyloid fibril protein related to prealbumin in familial amyloidotic polyneuropathy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1978; **75**: 4499.
- Andrade C. A peculiar form of peripheral neuropathy. *Acta Psychiatr Neurol Scand* 1951; **26**: 251.
- Andrade C. A peculiar form of peripheral neuropathy; familial atypical generalized amyloidosis with special involvement of the peripheral nerves. *Brain* 1952; **75**: 408.
- Maeda S, Mita S, Araki S, Shimada K. Structure and expression of the mutant prealbumin gene associated with familial amyloidotic polyneuropathy. *Mol Biol Med* 1986; **3**: 329.
- Pfeffer BA, Becerra SP, Borst DE, Wong P. Expression of transthyretin and retinol binding protein mRNAs and secretion of transthyretin by cultured monkey retinal pigment epithelium. *Mol Vis* 2004; **10**: 23.
- Holmgren G, Steen L, Ekstedt J, et al. Biochemical effect of liver transplantation in two Swedish patients with familial amyloidotic polyneuropathy (FAP-met30). *Clin Genet* 1991; **40**: 242.
- De Carvalho M, Conceição I, Bentes C, Luís ML. Long-term quantitative evaluation of liver transplantation in familial amyloid polyneuropathy (Portuguese V30M). *Amyloid* 2002; **9**: 126.
- Suhr OB, Ericzon BG, Friman S. Long-term follow-up of survival of liver transplant recipients with familial amyloid polyneuropathy (Portuguese type). *Liver Transpl* 2002; **8**: 787.
- Neuberger J, Ubel PA. Finding a place for public preferences in liver allocation decisions. *Transplantation* 2000; **70**: 1411.
- Yamamoto S, Wilczek HE, Iwata T, et al. Long-term consequences of domino liver transplantation using familial amyloidotic polyneuropathy grafts. *Transpl Int* 2007; **20**: 926.
- Furtado A, Tomé L, Oliveira FJ, Furtado E, Viana J, Perdigoto R. Sequential liver transplantation. *Transplant Proc* 1997; **29**: 467.
- Ericzon BG, Larsson M, Herlenius G, Wilczek HE. Report from the familial amyloidotic polyneuropathy world transplant registry (FAPWTR) and the domino liver transplant registry (DLTR). *Amyloid* 2003; **10**(Suppl. 1): 67.
- Furtado AJ. Domino liver transplantation using FAP grafts. HUC experience—hopes and realities. *Amyloid* 2003; **10**(Suppl. 1): 84.
- Suhr OB, Holmgren G, Steen L, et al. Liver transplantation in familial amyloidotic polyneuropathy. Follow-up of the first 20 Swedish patients. *Transplantation* 1995; **60**: 933.
- Ando Y, Ericzon BG, Suhr OB, Tashima K, Ando M. Reuse of a Japanese familial amyloidotic polyneuropathy patient's liver for a cancer patient: the domino liver transplantation procedure. *Intern Med* 1997; **36**: 847.
- Ando E, Ando Y, Okamura R, Uchino M, Ando M, Negi A. Ocular manifestations of familial amyloidotic polyneuropathy type I: long-term follow up. *Br J Ophthalmol* 1997; **81**: 295.
- Sandgren O, Drugge U, Holmgren G, Sousa A. Vitreous involvement in familial amyloidotic neuropathy: a genealogical and genetic study. *Clin Genet* 1991; **40**: 452.
- Monteiro JG, Martins AF, Figueira A, Saraiva MJ, Costa PP. Ocular changes in familial amyloidotic polyneuropathy with dense vitreous opacities. *Eye (Lond)* 1991; **5**: 99.
- Sousa MM, Ferrão J, Fernandes R, et al. Deposition and passage of transthyretin through the blood–nerve barrier in recipients of familial amyloid polyneuropathy livers. *Lab Invest* 2004; **84**: 865.
- Sandgren O, Kjellgren D, Suhr OB. Ocular manifestations in liver transplant recipients with familial amyloid polyneuropathy. *Acta Ophthalmol* 2008; **86**: 520.
- Dunlop AA, Graham SL. Familial amyloidotic polyneuropathy presenting with rubeotic glaucoma. *Clin Experiment Ophthalmol* 2002; **30**: 300.
- Popescu I, Simionescu M, Tulbure D, et al. Homozygous familial hypercholesterolemia: specific indication for domino liver transplantation. *Transplantation* 2003; **76**: 1345.
- Azabdaftari G, Pomfret EA, Simpson MA, et al. Excellent outcome following transplantation of a domino donor liver with high-grade macrosteatosis. *Pathol Res Pract* 2004; **200**: 581.
- Rask L, Anundi H, Böhme J, et al. The retinol-binding protein. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 1980; **154**: 45.
- Sandgren O. Introduction; in Umea University Medical Dissertations / University of Umea: Ocular Involvement in Familial Amyloidotic Polyneuropathy; 1992, pp 9.

26. Beirão M, Matos E, Beirão I, Costa P, Torres P. Anticipation of presbyopia in Portuguese familial amyloidosis ATTR V30M. *Amyloid* 2011; **18**: 92.
27. Dütsch M, Hilz MJ, Rauhut U, Solomon J, Neundörfer B, Axelrod FB. Sympathetic and parasympathetic pupillary dysfunction in familial dysautonomia. *J Neurol Sci* 2002; **195**: 77.
28. Bremner F, Smith S. Pupil findings in a consecutive series of 150 patients with generalized autonomic neuropathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2006; **77**: 1163.
29. Dütsch M, Marthol H, Michelson G, Neundörfer B, Hilz MJ. Pupillography refines the diagnosis of diabetic autonomic neuropathy. *J Neurol Sci* 2004; **222**: 75.
30. Ferrari GL, Marques JL, Gandhi RA, et al. Using dynamic pupillometry as a simple screening tool to detect autonomic neuropathy in patients with diabetes: a pilot study. *Biomed Eng Online* 2010; **9**: 26.
31. Filipe JA, Falcão-Reis F, Castro-Correia J, Barros H. Assessment of autonomic function in high level athletes by pupillometry. *Auton Neurosci* 2003; **104**: 66.
32. Heller PH, Perry F, Jewett DL, Levine JD. Autonomic components of the human pupillary light reflex. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1990; **31**: 156.
33. Piha SJ, Halonen JP. Infrared pupillometry in the assessment of autonomic function. *Diabetes Res Clin Pract* 1994; **26**: 61.
34. Klepetko W, Wollenek G, Laczkovics A, Laufer G, Wolner E. Domino transplantation of heart-lung and heart: an approach to overcome the scarcity of donor organs. *J Heart Lung Transplant* 1991; **10**: 129.
35. Moreno EG, García GI, González-Pinto I, Gómez SR, Loinaz SC. Successful reuse of a liver graft. *Br J Surg* 1991; **78**: 813.
36. Stangou AJ, Heaton ND, Hawkins PN. Transmission of systemic transthyretin amyloidosis by means of domino liver transplantation. *N Engl J Med* 2005; **352**: 2356.
37. Ericzon BG. Domino transplantation using livers from patients with familial amyloidotic polyneuropathy: should we halt? *Liver Transpl* 2007; **13**: 185.
38. Terazaki H, Ando Y, Nakamura M, et al. Variant transthyretin in blood circulation can transverse the blood-cerebrospinal barrier: qualitative analyses of transthyretin metabolism in sequential liver transplantation. *Transplantation* 2001; **72**: 296.
39. Baratta L, Tubani L, Merli M, et al. Long-term effect of liver transplantation on cirrhotic autonomic cardiac dysfunction. *Dig Liver Dis* 2010; **42**: 131.
40. Thuluvath PJ, Triger DR. Autonomic neuropathy and chronic liver disease. *Q J Med* 1989; **72**: 737.
41. MacGilchrist AJ, Reid JL. Impairment of autonomic reflexes in cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 1990; **85**: 288.
42. Hendrickse MT, Triger DR. Peripheral and cardiovascular autonomic impairment in chronic liver disease: prevalence and relation to hepatic function. *J Hepatol* 1992; **16**: 177.
43. Carey EJ, Gautam M, Ingall T, Douglas DD. The effect of liver transplantation on autonomic dysfunction in patients with end-stage liver disease. *Liver Transpl* 2008; **14**: 235.

Inability of Mutant Transthyretin V30M to Cross the Blood-Eye Barrier

Liver transplantation is the main therapeutic option for familial amyloidotic polyneuropathy (FAP) (Portuguese type, caused by a substitution of methionine for valine at position 30 of transthyretin - TTRV30M) (1). It virtually eliminates circulating TTR V30M, with a positive impact on survival and quality of life (2). Domino liver transplantation using grafts from FAP patients is a well-established procedure (3) and is regarded as a safe way to increase donor availability (4, 5). However, reports of de novo amyloidosis in FAP liver recipients (6, 7) have caused much concern.

FAP patients present ophthalmic disorders such as lacrimal dysfunction, pupillary disturbances, glaucoma, and vitreous opacities (8–10). The ability of mutant transthyretin to cross the blood-brain (11) and blood-nerve barriers (6) has been documented, but no conclusive data exists about its ability to cross the blood-eye barrier. If the circulating TTR V30M penetrates the eye, the possibility of acquired amyloidotic oculopathy should be considered in FAP liver recipients.

CASE REPORT

A 63-year-old male, submitted to domino liver transplantation because of hepatic alcoholic cirrhosis 2 years previously, underwent cataract surgery. No previous ocular disease was reported. At the beginning of surgery, 0.1 mL of aqueous humor was collected from the anterior chamber and used for TTR V30M detection by cyanogen bromide cleavage and sodium dodecyl sulfate–polyacrylamide gel electrophoresis, as described by Saraiva et al. (12), followed by Western blot analysis with antiprealbumin primary antibody (FL-147, #sc-13098; Santa Cruz Biotechnology, CA). As positive and negative controls, we used sera from two individuals with a definite diagnosis based on clinical findings and the result of molecular testing for the TTR V30M mutation. Cleavage of TTR V30M with cyanogen bromide produces

an additional 10.6-kDa peptide fragment because of the methionine residue at position 30. This fragment was detected in the serum of both the positive control and the domino liver transplant recipient (Fig. 1A,B). In the aqueous humor of the domino liver transplant recipient, this band was absent.

These results were complemented by matrix-assisted laser desorption/ionization–time-of-flight mass spectrometer (MALDI TOF-MS) analysis, as described by Haraoka et al. (13). Mass spectra of TTR immunoprecipitated from the aqueous humor and serum samples were acquired in a 4800 MALDI-TOF/TOF-MS (Applied Biosystems, Foster City, CA) and were analyzed with Data Explorer software version 4.9 (Applied Biosystems). The spectra obtained are represented in Figure 1C–F. Taking as reference previously published results (13), we can identify three peaks for TTR in the positive control sample that correspond to free and cysteine (Cys)-conjugated forms of wild-type TTR (13,776±10 d and 13,890±10 d) and Cys-conjugated form of the TTR V30M variant (13,923±10 d). In the negative control sample we can see only the peaks of the free and Cys conjugated forms of wild-type TTR (13,766±10 d and 13,880±10 d). As in the negative control sample, the spectrum of the aqueous humor of the FAP liver transplant recipient has the two peaks attributed to wild-type TTR (13,761±10 d and 13,883±10 d), but the peak of mutant TTR is absent. As expected, the mutant TTR V30M peak was detected in this patient's serum (13,911±10 d).

DISCUSSION

Amyloid deposition has an important role in oculopathy in FAP patients. Therefore, determining the ability of mutant TTR to cross the blood-eye barrier is essential to predict the possible future occurrence of endocular pathology in FAP donor domino liver recipients.

In this study, mutant TTR was not detected in the aqueous humor of an

FAP liver recipient despite its presence in the serum, suggesting that TTR and, in particular, TTR V30M is unable to cross the blood-eye barrier. Thus, the risk of severe endocular disease seems to be negligible in FAP liver recipients. Ocular manifestations associated with extraocular amyloid deposition may still occur.

This study was carried out in a liver transplant recipient with no known previous eye disease. We do not know if, in patients with existing or supervening conditions, the integrity of the blood-eye barrier is maintained.

It might be argued that small quantities of variant TTR could be present in the aqueous humor at a concentration below the detection limits of both the Western blotting and MALDI-TOF assays used. However, even if that was the case, we would like to point out that protein aggregation and fibrillogenesis are highly concentration-dependant phenomena and that a threshold exists below which aggregation is unlikely to occur (14, 15). This work reinforces the current consensus that domino liver transplantation justifies the risks of iatrogenic FAP, although careful monitoring of these patients will be necessary.

João M. Beirão^{1,2,3}
Luciana V. Moreira^{3,4}
Pedro C. Lacerda⁴
Rui P. Vitorino⁵
Idalina B. Beirão^{2,3}
Paulo A. Torres^{1,3}
Paulo P. Costa^{3,4}

¹ Ophthalmology
Hospital de Santo António
Porto, Portugal

² Unidade Clínica de Paramiloidose
Hospital de Santo António
Porto, Portugal

³ UMIB, ICBAS
Instituto de Ciências Biomédicas
Abel Salazar
Porto, Portugal

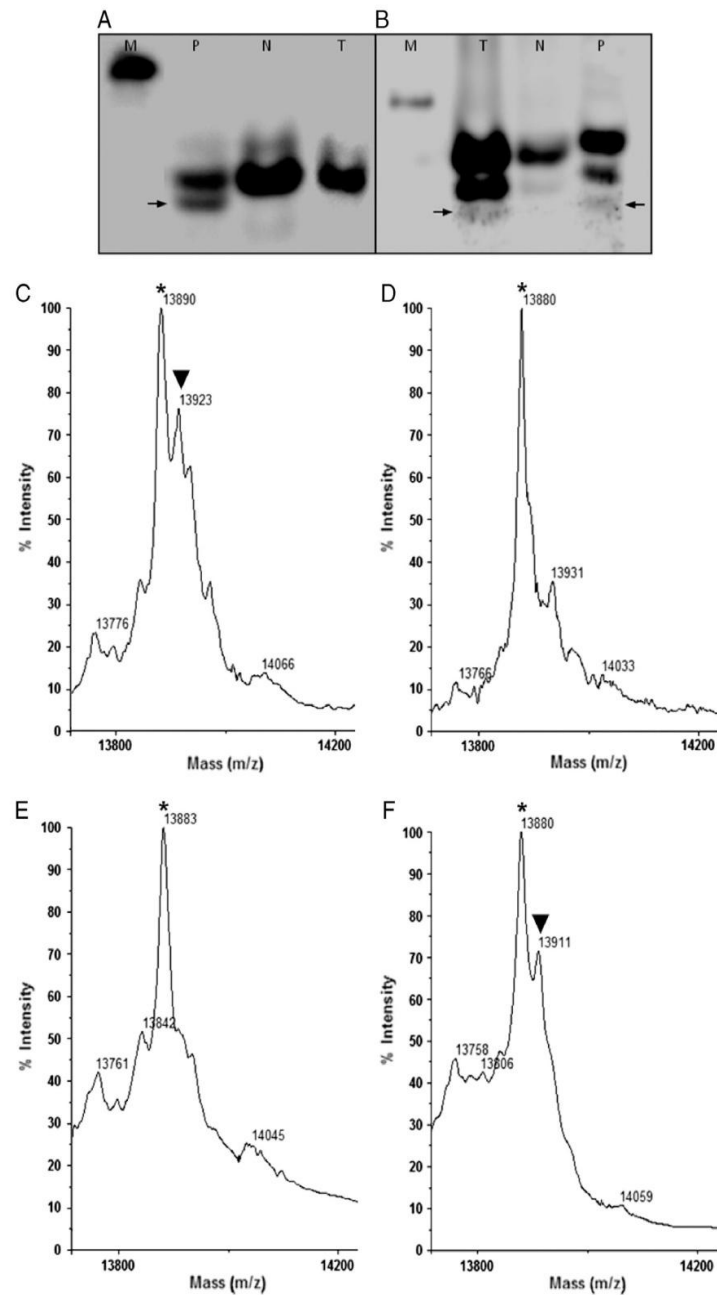


FIGURE 1. Western blot after cyanogen bromide cleavage (A and B) and mass spectra (C–F); fragment (arrow) containing the residues 30–127 of the transthyretin with replacement at position 30 methionine for valine (TTR V30M) polypeptide chain, present only in the carriers of the mutation. Lane P represents the positive control serum; N, the negative control serum; T, the aqueous humor from the transplanted patient (A) and serum from the transplanted patient (B). Lanes M represent the molecular weight marker used (MagicMark; Invitrogen, Carlsbad, CA). Mass spectra of a positive (C) and negative (D) control serum for the TTR V30M mutation and the aqueous humor (E) and serum sample (F) of the transplanted patient. * Cysteine-conjugated form of wild-type TTR; ▼ Cysteine-conjugated form of amyloidosis TTR V30M.

⁴ Centro de Genética Médica
Dr. Jacinto Magalhães
INSA I.P., Porto, Portugal
⁵ Universidade de Aveiro
Aveiro, Portugal

This study was supported by fellowship SFRH/BD/46441/2008 and grant PEst-C/UI/10062/2011 from the Fundação para a Ciência e a Tecnologia and by the Laboratórios Théa—Portugal.

The authors declare no conflicts of interest.

Address correspondence to: João M. Beirão, M.D., Serviço de Oftalmologia, Hospital de Santo António, Largo Prof. Abel Salazar, 2, 4099-001 Porto, Portugal.

E-mail: bbeirao@iol.pt

J.M.B. and P.P.C. participated in making the research design, analyzing data, and writing the article. L.V.M. and P.C.L. participated in analyzing laboratory data and writing the article. R.P.V. participated in performing the research. I.B.B. and P.A.T. participated in writing the article.

Received 28 June 2012.

Accepted 13 July 2012.

Copyright © 2012 by Lippincott Williams & Wilkins
ISSN: 0041-1337/12/9408-e54

DOI: 10.1097/TP.0b013e318269e6d1

ACKNOWLEDGMENT

The authors acknowledge Rosario Santos group (Centro de Genética Médica Dr. Jacinto Magalhães) for the image acquisition system.

REFERENCES

1. Herlenius G, Wilczek HE, Larsson M, et al. Ten years of international experience with liver transplantation for familial amyloidotic polyneuropathy: results from the Familial Amyloidotic Polyneuropathy World Transplant Registry. *Transplantation* 2004; 77: 64.
2. Yamashita T, Ando Y, Okamoto S, et al. Effect of liver transplantation on the survival of patients with ordinary onset familial amyloid polyneuropathy in Japan. *Amyloid* 2011; 18(suppl 1): 180.
3. Furtado A, Tomé L, Oliveira FJ, et al. Sequential liver transplantation. *Transplant Proc* 1997; 29: 467.
4. Monteiro E, Freire A, Barroso E. Familial amyloid polyneuropathy and liver transplantation. *J Hepatol* 2004; 41: 188.
5. Ericzon BG, Larsson M, Wilczek HE. Domino liver transplantation: risks and benefits. *Transplant Proc* 2008; 40: 1130.
6. Sousa MM, Ferrão J, Fernandes R, et al. Deposition and passage of transthyretin through the blood-nerve barrier in recipients of familial amyloid polyneuropathy livers. *Lab Invest* 2004; 84: 865.
7. Stangou AJ, Heaton ND, Hawkins PN. Transmission of systemic transthyretin amyloidosis by means of domino liver transplantation. *N Engl J Med* 2005; 352: 2356.
8. Ando E, Ando Y, Okamura R, et al. Ocular manifestations of familial amyloidotic polyneuropathy type I: long-term follow up. *Br J Ophthalmol* 1997; 81: 295.
9. Beirão NM, Matos E, Beirão I, et al. Recurrence of vitreous amyloidosis and need of surgical reintervention in Portuguese patients with familial amyloidosis ATTR V30M. *Retina* 2011; 31: 1373.
10. Beirão M, Matos E, Beirão I, et al. Anticipation of presbyopia in Portuguese familial amyloidosis ATTR V30M. *Amyloid* 2011; 18: 92.
11. Terazaki H, Ando Y, Nakamura M, et al. Variant transthyretin in blood circulation can transverse the blood-cerebrospinal barrier: qualitative analyses of transthyretin metabolism in sequential liver transplantation. *Transplantation* 2001; 72: 296.
12. Saraiva MJM, Costa PP, Goodman DS. Biochemical marker in familial amyloidotic polyneuropathy, Portuguese type. Family studies on the transthyretin (prealbumin)-methionine 30 variant. *J Clin Invest* 1985; 76: 2171.
13. Haraoka K, Ando Y, Ando E, et al. Presence of variant transthyretin in aqueous humor of a patient with familial amyloidotic polyneuropathy after liver transplantation. *Amyloid* 2002; 9: 247.
14. Lansbury PT Jr. Evolution of amyloid: what normal protein folding may tell us about fibrillogenesis and disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 3342.
15. Esler WP, Stimson ER, Ghilardi JR, et al. In vitro growth of Alzheimer's disease beta-amyloid plaques displays first-order kinetics. *Biochemistry* 1996; 35: 749.

New-Onset Parkinson Syndrome After Liver Transplantation

Serious neurologic complications (NCs) may occur in up to 45% of patients after liver transplantation (LT). The most common NCs were considered to be encephalopathy and seizures in many published series (1) and were associated with increased morbidity and mortality (2). It is often difficult to identify the cause of the neurologic symptoms because of the unspecific nature of their presentation. NCs are frequently attributed to the well-described adverse effects of calcineurin inhibitors, tacrolimus (TAC), or cyclosporine A (3). The failure to recognize and adequately treat NCs can lead to a fatal outcome (4).

In this case report, we describe a manifestation of Parkinson syndrome after LT.

A 47-year-old female underwent deceased donor LT caused by alcohol-related liver cirrhosis. The surgery was

uneventful. The immunosuppression therapy was a calcineurin inhibitor-based triple regimen with TAC (with a target level of 5–8 ng/mL), mycophenolate mofetil, and prednisone. The liver function tests were in the reference range within 1 week. The patient was able to be weaned from the ventilator 5 hr after surgery. At this time, she was fully awake and had good motor function. There were no dopamine-blocking agents used.

On postoperative day (POD) 1, the patient seemed somnolent. She followed commands but was unable to talk or move voluntarily. Slight rigor in the patient's extremities was also noted. On the same day, the patient developed akinesia, which significantly compromised her respiratory function. In the evening of POD 1, the patient was reintubated. Her TAC blood level at this time was 8.2 ng/mL. A computed

tomographic scan of the head did not reveal any pathologic findings. On POD 2, the patient recovered completely and was extubated. A neurologic consult was performed, and no deficits were found; however, 12 hr later, the patient's condition deteriorated significantly. The patient developed the same clinical picture and had to be reintubated but could be extubated few hours later. On POD 3, the same clinical scenario repeated again. The neurologist was able to see the patient before reintubation and gave a diagnosis of an atypical Parkinson syndrome. Levodopa and benzerazide were administered. Soon after treatment was started, the symptoms resolved, and she finally maintained respiratory stability. On POD 15, the patient was discharged from the intensive care unit. A follow-up magnetic resonance imaging performed on POD

Introdução

Descrição das alterações oftalmológicas da PAF na população portuguesa

Impacto do transplante hepático na oculopatia

Descrição de outras alterações: Presbiopia e Sensibilidade ao Contraste

Eritropoietina e neuroproteção no glaucoma

Terapêutica da oculopatia da PAF

Alterações oculares de recetores de fígado PAF e risco de oculopatia

VIII → Discussão

Conclusões

Perspetivas futuras

VIII → Discussão

MANIFESTAÇÕES OCULARES NA PAF NA POPULAÇÃO PORTUGUESA

O envolvimento ocular na PAF é conhecido desde a primeira descrição da doença em 1952 por Corino de Andrade na revista *Brain* (1), que observou e descreveu em alguns doentes, anisocoria, diminuição dos reflexos pupilares à luz e à convergência, bem como o característico aspeto de íris denteada. Também descreveu uma resposta pupilar normal ao colírio de atropina, no entanto observou a ausência completa de resposta pupilar aos colírios que induzem miose, nomeadamente a fisostigmina e a pilocarpina. Desde então, muito se aprendeu sobre o envolvimento oftalmológico na PAF.

A TTR é sintetizada e secretada também a nível ocular. Vários estudos determinaram que é produzida pelo epitélio pigmentar da retina e pelo epitélio pigmentado do corpo ciliar (2-5). É encontrada em praticamente todas as estruturas endoculares, como a córnea, o humor aquoso, a íris, as cápsulas do cristalino, o vítreo e a retina (4). A TTR mutante (V30M), circulante na corrente sanguínea, parece estar implicada nas alterações extraoculares, como as anomalias vasculares conjuntivais e o olho seco. Já a TTR de produção endocular pode estar envolvida nas alterações endoculares, como sejam as anomalias da íris (deposição de amiloide na íris e íris denteada), a deposição de amiloide na cápsula anterior do cristalino, a deposição de amiloide no vitreo, o glaucoma e a angiopatia amiloidótica da retina.

A prevalência das manifestações oftalmológicas aumenta com o tempo da doença PAF. No nosso estudo, efetuado numa população de doentes portugueses PAF (resultados submetidos a publicação), as alterações oculares nunca foram o primeiro ou o único sintoma da doença. Devido ao aparecimento assimétrico das alterações oculares nos nossos doentes PAF, cada olho foi avaliado de forma separada neste estudo. Foram avaliados no total 954 olhos de 477 doentes PAF. A prevalência de cada uma das alterações aqui apresentada foi calculada com base na análise global da amostra.

Anomalias vasculares da conjuntiva

As anomalias vasculares da conjuntiva são alterações assintomáticas que se apresentam como dilatações fusiformes dos vasos conjuntivais, de localização justa límbica, e que podem contribuir para o aspeto ruborizado que apresentam os olhos de alguns doentes PAF. A primeira descrição das anomalias vasculares da conjuntiva em doentes PAF foi efetuada por Ando *et al.* (6) no Japão, que comparou entre si doentes PAF sintomáticos, doentes com pandisautonomia idiopática, portadores assintomáticos da PAF e indivíduos normais. Sugeriu, com base nesse trabalho, que as anomalias vasculares da conjuntiva se deviam à disautonomia associada à deposição conjuntival de amiloide e que seriam a primeira e a mais frequente alteração oftalmológica da PAF, ocorrendo em 86 % dos doentes (18 dos 21 doentes estudados). Posteriormente em outras descrições do mesmo autor, as anomalias vasculares da conjuntiva estavam presentes em 61 % de 49 doentes (7) e em 75,7% de 37 doentes (8). Na Suécia, Sandgren *et al.* (9) observaram esta alteração em apenas 2 de 115 doentes PAF suecos (1,7%), e não verificou a deposição de amiloide conjuntival no exame anatomopatológico de uma biópsia num dos casos.

O fenótipo de apresentação clínica sistémica da PAF nos doentes portugueses é mais próximo do fenótipo japonês do que do fenótipo sueco. Seria de esperar que, nos nossos doentes, as anomalias vasculares da conjuntiva fossem a primeira manifestação e a mais frequente, resultados não observados no nosso estudo. No geral, as anomalias vasculares da conjuntiva foram observados em 14,3 % dos doentes do nosso estudo e parecem surgir após as alterações relacionadas com o olho seco. Não houve predominância em nenhum dos géneros (15,4% no género masculino versus 13,2% no género feminino), nem se observou diferenças entre os grupos de diferente progenitor-transmissor. A prevalência foi maior nos doentes PAF com mais tempo de doença. As anomalias vasculares da conjuntiva são estatisticamente mais prevalentes no grupo de doentes cuja idade de início de doença ocorreu entre 40 e 50 anos (17,2%), seguido pelo grupo de doentes com início de doença antes dos 40 anos (15,6%) e por último pelo grupo de doentes com início de doença após os 50 anos (4,4%). Portanto, as anomalias vasculares da conjuntiva não foram mais prevalentes no grupo de idade de início de doença mais precoce, normalmente

com evolução mais agressiva da neuropatia. As diferenças observadas entre os vários estudos poderão ser explicadas por diferenças de avaliação das anomalias vasculares da conjuntiva nas diferentes populações e pelo provável envolvimento de outros fatores modificadores dos fenótipos, além da neuropatia.

Queratoconjuntivite *sicca* e queratite neurotrófica

O olho seco é considerado uma das manifestações oftalmológicas mais frequentes dos doentes com PAF. Kimura *et al.* (7) descreveram em 49 doentes japoneses, 29 com queratoconjuntivite *sicca* (60%) e Ando *et al.* (8) observaram olho seco em apenas 40,5% dos 37 doentes PAF estudados, com forte predominância do sexo feminino. Nos doentes suecos, Sandgren *et al.* (10, 11) descreveram o olho seco, como a alteração oftalmológica mais precoce e a mais frequente, que afetava cerca de 33 % dos doentes. Os métodos utilizados na avaliação do olho seco não foram iguais em todos os estudos, o que pode contribuir para as diferenças encontradas na prevalência, bem como as diferenças nas idades e nos fenótipos entre os doentes japoneses, suecos e portugueses.

No nosso estudo, a avaliação do olho seco foi efetuada com o teste de Schirmer sem anestesia tópica e o tempo de rotura do filme lacrimal (TBUT). O teste de Schirmer está mais direcionado para o estudo da produção da glândula lacrimal principal, enquanto o TBUT está direcionado para o estudo da estabilidade do filme lacrimal, dado pela camada lipídica produzida pelas glândulas de Meibómio na margem palpebral (12, 13).

A alteração no teste de Schirmer foi encontrada em 67,1% dos doentes PAF (635 olhos de 320 doentes), mais prevalente nos doentes com idade de início da doença tardio (80,6%), seguido dos doentes com idade de início da doença intermédio (71,9%) e, por último os doentes com idade de início precoce (63,6%). Os resultados encontrados no teste de Schirmer estão associados à idade do próprio doente, tal como acontece na população em geral (14). Estes dados apontam para uma maior deposição de amiloide na glândula lacrimal nos doentes com início tardio, tal como a hipótese levantada por Sandgren *et al.* pelo seu estudo em doentes suecos (11). As alterações encontradas no teste de Schirmer não parecem relacionar-se com a disautonomia da glândula lacrimal,

dado que os vários estudos efetuados na PAF descrevem a disautonomia como mais marcada nos doentes com idade de início precoce. Nos doentes portugueses não foram observadas diferenças significativas no teste Schirmer entre géneros (masculino 63% no género masculino versus 71% no género feminino) e, também não foi encontrada diferença em relação ao progenitor transmissor (pai 65% versus mãe 67%), possivelmente traduzindo a menor influência da neuropatia, frequentemente mais precoce e mais agressiva no género masculino e quando o progenitor-transmissor é a mãe.

As alterações no TBUT foram encontradas em 79,5% dos doentes PAF sintomáticos (751 olhos de 379 doentes). As alterações no TBUT foram as alterações oculares mais frequentes e parecem ser as primeiras a ocorrer na população estudada. Esta alteração ocular aumenta de prevalência com o aumento do tempo de duração da doença e não há uma diferença estatisticamente significativa entre géneros (72,5% no género masculino versus 86,9% no género feminino), apesar da evolução da neuropatia ser frequentemente mais agressiva nos homens (15). Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas em relação ao progenitor-transmissor. Pela inervação rica em fibras parassimpáticas das glândulas de Meibómio (16), seria expectável um atingimento mais marcado no grupo de início precoce, com neuropatia autonómica mais marcada mas, não se encontraram diferenças significativas no TBUT entre os grupos de doentes com diferentes idades de início da doença.

A queratite neurotrófica, que pode afetar os doentes com PAF, é uma complicação ocular, por vezes, de muito difícil controlo. No passado foram descritos casos clínicos em que foi necessário recorrer a múltiplos transplantes de córnea que, geralmente apresentaram sucesso muito limitado. Atualmente, o tratamento preferencial para as úlceras neurotróficas graves baseia-se em atitudes mais conservadoras como a aplicação de lentes de contato esclerais, a blefaro/tarsorrafia, a aplicação de colas biológicas e a aplicação de membranas amnióticas e de soro autólogo (17-19). A microscopia confocal corneana mostra alterações nos nervos corneanos em vários tipos de neuropatias periféricas, acreditando-se que possa também ocorrer na PAF (20-24).

Anormalidades da íris

Os doentes PAF podem apresentar várias alterações da íris que parecem ser um *continuum* de uma mesma entidade. A alteração inicial é a deposição de amiloide no bordo da íris que evolui, com o tempo, para o denteamento da íris. Inicialmente começa por um quadrante do bordo pupilar e posteriormente atinge todos os outros. A íris denteada foi referida na primeira descrição da doença por Andrade (1) e, posteriormente, por outros autores (8, 25). Ando *et al.* (8) encontraram alterações pupilares (deposição de amiloide no bordo pupilar, íris denteada ou diminuição de resposta à luz) em 20 % dos doentes PAF japoneses. No exame anatomopatológico encontraram depósitos de amiloide na íris ao nível da face anterior, da face posterior, do bordo pupilar e ao nível dos músculos constritor e dilatador. Sandgren *et al.* (26) descreveu a íris denteada em 43% dos doentes PAF suecos submetidos a transplante hepático. No entanto, no seu estudo para o seu doutoramento em 1992 (9) referiu a existência de íris denteada apenas em 2% em doentes PAF sem transplante hepático. No nosso estudo, a prevalência observada foi de 38,3 % (350 olhos de 183 doentes) para os depósitos de amiloide na íris e de 27,9 % (238 olhos de 133 doentes) para a íris denteada (1 a 4 quadrantes). Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa na prevalência da amiloidose iridiana ou da íris denteada entre os grupos com diferentes idades de início de doença, nem entre géneros ou grupos com diferente progenitor-transmissor. As alterações da íris aumentam de prevalência com o tempo de doença e a mediana de idades dos doentes com íris denteada ou amiloide na íris foi significativamente superior à dos doentes sem essas manifestações ($P=0,006$ e $P=0,007$, respetivamente). Foi sugerido que a ocorrência de íris denteada é preditiva da presença ou do aparecimento do glaucoma (7). Os nossos resultados mostram uma forte associação entre a presença de glaucoma e íris denteada (92,1% dos olhos com glaucoma apresentavam íris denteada). Assim, a ausência de íris denteada sugere que o seguimento do doente pode não ser tão frequente, enquanto a sua presença deverá indiciar o risco aumentado de aparecimento de glaucoma e a necessidade de uma vigilância mais frequente.

Outras alterações pupilares podem ser encontradas nos doentes PAF, tais como a diminuição ou ausência de miose no reflexo de reação à luz, na convergência,

e a anisocoria. Estas alterações estão relacionadas com a deposição da amiloide intraintracelular e com o atingimento do sistema nervoso autónomo (26, 27).

Alterações na cápsula anterior do cristalino

A amiloide pode depositar-se na cápsula anterior do cristalino e ser observada através da lâmpada de fenda. Geralmente apresenta-se como depósito central único, transparente, de forma arredondada ou com limites denteados. Sá em 1960 (28) e Andrade em 1962 (29) foram os primeiros a descrever esta manifestação, que associaram à amiloidose vítrea e ao glaucoma, dados confirmados por Tsukahara (30) em 1978, no Japão. Um ano antes, em 1977, Plane *et al.* descreveram não haver associação com a amiloidose vítrea e com o glaucoma (31). Futa *et al.* (32) descreveram a alteração, associando-a apenas ao glaucoma e não à amiloidose vítrea. Sandgren (9) encontrou a deposição na cápsula anterior do cristalino em 33% dos doentes com amiloidose vítrea e apenas 8% dos doentes com esta alteração tinham glaucoma. De realçar, a forte predominância desta alteração no género feminino nos doentes suecos (66,7% versus 1,8%) em estudos efetuados por Sandgren (9). No nosso estudo, esta manifestação ocular foi observada em 32,9% (308 olhos de 157 doentes) dos doentes, sem diferença significativa na prevalência entre géneros, entre grupos de diferente idade de início da doença e em relação ao progenitor-transmissor. Os doentes com mais tempo de doença apresentam maior prevalência desta alteração.

Amiloidose vítrea

Alguns autores referem que a amiloidose sistémica associada à mutação da TTR é a única que leva ao aparecimento de amiloidose vítrea (10). Contudo, já foi descrito pelo menos um caso em que não foi encontrada qualquer mutação da TTR no doente afetado (33). A composição do vítreo, particularmente a presença de proteoglicanos (34) e de colagénio tipo II (35) com semelhanças estruturais e bioquímicas com o colagénio das membranas basais (36), facilita de forma privilegiada a deposição em “sementeira” no vítreo (37). A prevalência da amiloidose vítrea na PAF varia de 0 a mais de 30%, aumentando com o tempo de duração da doença, consoante os vários estudos publicados (8, 38).

A idade de aparecimento da amiloidose vítrea é diferente nas várias populações anteriormente estudadas. Nos doentes suecos surge, em média, aos 67 anos de idade, enquanto nos japoneses ocorre, em média, aos 47 anos de idade (39). Nos doentes japoneses com PAF, a amiloidose vítrea foi observada em média 6 anos após os primeiros sintomas sistémicos da doença (40). No nosso estudo, não foram encontradas alterações oculares da PAF em portadores assintomáticos, apesar de haver descrições de amiloidose vítrea como manifestação inaugural da doença em cerca de 50% dos doentes suecos e em cerca de 22% dos doentes japoneses (39, 41-43). Este facto, aliado ao melhor conhecimento do aspeto macroscópico da amiloidose vítrea, diminui o risco de poder ser confundida com inflamações endoculares ou infiltrações linfomatosas nos doentes portugueses.

Ao exame oftalmológico, a amiloidose vitrea apresenta uma cor acinzentada, nas suas fases iniciais localizada apenas à superfície da retina, isto é, na hialoideia posterior, e em torno dos vasos sanguíneos (44). Com o aumento da deposição começa a distribuir-se por todo o vítreo criando um aspeto de “lã de vidro”. Nesta fase, os sintomas são miodesopsias. Em fases mais tardias há diminuição da acuidade visual por opacificação do vítreo. Geralmente há uma grande divergência entre o aspeto de densidade de deposição de amiloide no vítreo e a acuidade visual. Isto é, os doentes PAF apresentam uma acuidade visual mais baixa do que aparentemente seria de esperar, pela opacificação encontrada do vítreo. A razão é a deposição da amiloide muito marcada na hialóidea posterior. Os filamentos de vítreo com amiloide, quando se estendem até à face posterior do cristalino e aderem, adquirem o aspeto de tachas e/ou de pequenos cogumelos designando-se por *pseudopodia lentis*, considerado pela maioria dos autores um aspeto patognomónico da amiloidose vitrea (45).

No estudo dos nossos doentes, a amiloidose vitrea foi encontrada em 17,4 % dos doentes (139 olhos de 83 doentes), sem diferenças estatisticamente significativas entre os grupos de diferente idade de início da doença, entre os géneros ou entre os grupos de diferente progenitor-transmissor. A prevalência de amiloidose vitrea também aumenta com o tempo de duração da doença e a mediana das idades dos doentes com amiloidose vítrea foi significativamente mais elevada do que a mediana das idades dos doentes sem amiloidose vitrea (46,8 versus 43,7 anos; $P=0,045$).

Glaucoma

O glaucoma de ângulo aberto é uma manifestação ocular da PAF, resultante da infiltração de amiloide do trabéculo com consequente aumento da resistência à saída do humor aquoso da câmara anterior (7, 30, 32, 46, 47).

A prevalência do glaucoma encontrada nos doentes PAF pelos diferentes autores variou entre 2 e 27% (7-9, 29, 48, 49). A primeira descrição em doentes portugueses foi efetuada por Sá em 1960, na qual o glaucoma foi associado à amiloidose vitrea e à deposição de amiloide na cápsula anterior do cristalino (28). Posteriormente foi descrito em 27% de 15 doentes japoneses (48). Em Portugal, Coutinho *et al.* (49) efetuou a avaliação oftalmológica em 483 doentes PAF, dos quais 6,6% apresentavam glaucoma. Sandgren (9) refere ter encontrado em 115 doentes PAF suecos, 6 olhos de 6 doentes com glaucoma resistente ao tratamento médico e necessitando de trabeculectomia para controlar a tensão ocular. No estudo prospetivo de 12 anos, Ando *et al.* (8) apresenta uma incidência de 5,4% em 37 doentes PAF e no seu mais recente estudo retrospectivo de 49 doentes, seguidos entre 1987 e 2002, identificou uma incidência global de glaucoma de 24% (7). O glaucoma dos doentes PAF aparece numa idade mais precoce do que o glaucoma crónico primário de ângulo aberto, da população em geral (8, 46, 48, 50). O glaucoma da PAF tem alterações específicas, como sejam depósitos de amiloide no bordo pupilar, íris denteada, depósito de amiloide na cápsula anterior do cristalino e no ângulo iridocorneano (48). No Japão, Kimura *et al.* (7) descreveram que a deposição de amiloide no bordo da íris é um sinal preditivo positivo do desenvolvimento de glaucoma, que pode preceder em vários meses ou mesmo anos o diagnóstico de glaucoma. Estes autores mostraram também, que 90% dos olhos com glaucoma apresentavam deposição de amiloide na cápsula anterior do cristalino e todos os doentes com pupila denteada apresentavam glaucoma. Também mostraram, que 46% dos doentes com amiloidose vitrea apresentavam uma relação estatisticamente significativa com glaucoma. Sandgren reportou uma relação inconstante desta associação nos doentes suecos (10). Não estão descritas associações entre o glaucoma, a queratoconjuntivite *sicca* e as anomalias vasculares da conjuntiva (7).

Uma associação entre glaucoma e disfunção do sistema nervoso autonómico tem sido discutida. Em 1985, Clark *et al.* (51) demonstraram a existência de uma neuropatia simpática em 42% dos doentes com hipertensão ocular, sugerindo que a subida da pressão ocular não é um fenómeno exclusivamente ocular, mas a manifestação de uma doença sistémica. A disautonomia com atingimento do sistema nervoso simpático e parassimpático é bem conhecida nos doentes PAF (52). Além das alterações no sistema nervoso autónomo, é possível encontrar nos doentes com glaucoma algumas alterações sistémicas que podem ocorrer nos doentes PAF, como alterações do sistema cardiovascular, do sono, do sistema imune, bem como distúrbios endócrinos e psicológicos (53).

Apesar de não existirem estudos comparativos entre o glaucoma na PAF e outros tipos de glaucoma de ângulo aberto, o glaucoma da PAF é, por nós, considerado como uma forma mais agressiva, com aparecimento súbito e rápida subida tensional. Kimura *et al.* (7) mencionaram que em 75% dos 20 olhos PAF estudados com glaucoma, não se conseguiu o controlo da tensão ocular com terapêutica médica, sendo necessário recorrer à cirurgia. No estudo de Tsukahara *et al.* (48), os quatro doentes com glaucoma também necessitaram de cirurgia filtrante. Para Kimura *et al.* (7), a cirurgia de eleição para o tratamento cirúrgico do glaucoma em doentes PAF é a trabeculectomia com recurso a mitomicina C per-operatória. A sua escolha foi fundamentada pela intensidade dos depósitos trabeculares bem como na persistência da síntese endocular de TTR mutante. Os mesmos autores descreveram a realização de duas esclerotomias profundas em 2 olhos, sem sucesso terapêutico. Nos doentes com muito mau estado geral, a trabecuplastia LASER poderá ser uma alternativa possível, mas faltam estudos que comprovem a sua vantagem e eficácia.

Ainda são necessários estudos comparativos de eficácia das várias classes de anti-hipertensores oculares e também dos possíveis efeitos secundários, que poderão ocorrer nos doentes PAF.

No nosso estudo, o glaucoma foi observado em 20,3 % dos doentes sintomáticos (165 olhos de 97 doentes), sem predomínio de género, de grupos com diferente idade de início da doença, ou de grupos com diferente progenitor-transmissor. À semelhança das outras manifestações, a prevalência do glaucoma aumenta com o tempo de duração da doença. A mediana da idade dos doentes com olhos com glaucoma, no nosso estudo, é mais elevada do que

a mediana de idade dos olhos sem glaucoma (46,2 versus 43,8 anos; $P=0,059$). Dos 165 olhos com glaucoma, a íris denteada estava presente em 152 olhos (92,1%) e ausente em 13 olhos (7,9%), (qui-quadrado, $P < 0,001$; regressão univariada, OR 15,041; 5,345-42,328; $P < 0,001$). No entanto, dos 238 olhos com íris denteada, 109 (45,8%) não apresentavam glaucoma. Estes dados reforçam a hipótese levantada por nós de que o glaucoma está fortemente associado à íris denteada.

Devido à agressão conjuntival pelas múltiplas terapêuticas tópicas a que os doentes PAF têm de ser submetidos e à deposição de amiloide na conjuntiva, as condições para a cirurgia filtrante são particulares. Atualmente, o tratamento cirúrgico de eleição para o glaucoma na PAF é a cirurgia filtrante com válvula de Ahmed. Esta cirurgia apresenta melhores resultados, e mais consistentes ao longo do tempo, do que a trabeculectomia com antimetabolitos ou outra variante (54).

Angiopatia amiloidótica retiniana

O atingimento vascular da retina como uma das manifestações oftalmológicas da PAF raramente é referido na literatura. Nos trabalhos com maior número de doentes, a presença de depósitos de amiloide perivascular da retina e da coriocapilar, foi descrita em estudos anatomopatológicos *post-mortem* em doentes suecos e em doentes japoneses (10, 55).

Foram relatadas alterações vasculares na angiografia com verde indocianina num doente japonês (56), onde se observou, nas fases tardias, impregnação da parede dos vasos da coroideia, que os autores interpretaram como devidas aos depósitos de amiloide.

Vários autores (30, 44, 45, 57) encontraram alterações retinianas periféricas vasculares, particularmente na angiografia fluoresceínica. Relataram a presença de microaneurismas, deiscência, embainhamento e oclusões vasculares com zonas de isquemia retiniana. Sem tratamento, alguns doentes evoluíram para neovascularização da íris e glaucoma neovascular, por vezes com consequências visuais muito graves (58).

No nosso estudo, a angiopatia amiloidótica retiniana foi observada em 4,4% (32 olhos de 21 doentes,) dos doentes, sem diferenças significativas entre os olhos

de doentes pertencentes aos diferentes grupos de idade de início, diferentes géneros e diferentes grupos de progenitor-transmissor. Trata-se de uma manifestação tardia, ausente nos doentes com cinco ou menos anos de doença e cuja prevalência aumenta com o tempo de doença. Foi encontrada uma associação entre angiopatia amiloidótica retiniana e a amiloidose vitrea (qui-quadrado, $P < 0,001$; regressão univariada, OR 6,902; 2,129-22,373; $P < 0,001$), com coexistência de amiloidose vitrea em cerca de 68,8% dos olhos com angiopatia amiloidótica. Esta associação poderá estar relacionada com a vitrectomia efetuada aos olhos com amiloidose vitrea, facilitando a circulação dos fatores amiloidogénicos e a impregnação, a partir do vítreo, da parede dos vasos da periferia da retina, provocando as alterações encontradas.

O atingimento vascular retiniano na PAF não é muito frequente mas a sua prevalência aumenta com o aumento do tempo de duração da doença e está associado à amiloidose vítrea. Obriga a exame regular da periferia da retina e, se necessário, a realização de angiografia fluorosceínica, particularmente nos olhos já vitrectomizados ou com deposição progressiva de amiloide no vítreo. É mandatório a realização de fotocoagulação LASER das áreas isquémicas da retina.

Walter *et al.* em 1995 submeteram 2 doentes portugueses com PAF a estudo eletrofisiológico de acordo com as recomendações da *International Society for Clinical Electrophysiology of Vision* (59). Um doente apresentava alterações no eletro-oculograma (EOG), enquanto o eletro-retinograma (ERG) era normal. Nos potenciais evocados visuais (PEV), nesse doente, a amplitude P100-N140 era normal, mas a latência de P100 encontrava-se consideravelmente prolongada. O outro doente também apresentava EOG alterado e a onda b do ERG estava consideravelmente reduzida e prolongada. Os PEV's apresentavam atraso no componente P100-N140. Os autores concluíram que os exames eletrofisiológicos oculares demonstraram disfunção da retina externa, do epitélio pigmentado da retina e do nervo ótico. Estes resultados não foram confirmados por Zhang *et al.* que não encontraram qualquer alteração nos PEV e ERG realizados em olhos de doentes PAF (60). Estudos eletrofisiológicos oculares (EOG, ERG e PEV) efetuados nos nossos doentes PAF mostram ausência de alterações significativas (dados não publicados). A auto-fluorescência retiniana revelou, também, ausência de alterações (dados não publicados). As diferenças

encontradas entre os vários estudos, entre os quais o nosso, poderão ser devidas aos diferentes tamanhos das populações estudadas, ao maior número de olhos e às diferenças entre os vários fenótipos.

A primeira manifestação ocular a aparecer na PAF é, no nosso estudo, o olho seco caracterizado primeiro pela diminuição do tempo de rotura do filme lacrimal e depois pela diminuição da produção de lágrima confirmada pelo teste de Schirmer. Com o tempo de duração da doença outras alterações vão aparecendo por esta ordem: a deposição da amiloide na íris e na cápsula anterior do cristalino, as anomalias vasculares da conjuntiva, a íris denteada, o glaucoma, a amiloidose vítrea e, mais tardiamente, a angiopatia amiloidótica retiniana.

A diminuição da acuidade visual nos doentes PAF pode ser multifatorial. Enquanto a amiloidose vítrea tem um prognóstico visual muito favorável, graças à vitrectomia, a queratite por olho seco grave poderá representar um sério desafio médico. O glaucoma e a angiopatia retiniana amiloidótica podem desenvolver-se de um modo relativamente rápido e conduzir à cegueira irreversível, se os doentes não forem submetidos a tratamento. A vigilância regular por oftalmologista é fundamental em todos os doentes PAF para deteção precoce de patologias oculares relacionadas com a doença ou fatores de risco para o glaucoma, como a íris denteada e a vitrectomia prévia.

Outras manifestações: sensibilidade ao contraste espacial, presbiopia

Os doentes com PAF referem frequentemente queixas de diminuição da qualidade de visão, muitas vezes unilaterais, associada a boa acuidade visual. Também são frequentes queixas de presbiopia precoce e necessidade de adição para perto, superior à expectável para a idade e para a refração do doente. Estas queixas são exacerbadas pelos doentes que foram submetidos a transplante hepático, que deste modo não apresentam queixas sistémicas relacionadas com a progressão da doença. Por conseguinte, estes doentes valorizam mais as queixas oculares do que aqueles que não foram sujeitos a transplante hepático e que lutam pela vida, dia a dia. Na tentativa de caracterizar estas queixas, efetuamos estudos de sensibilidade ao contraste espacial em

doentes com boa acuidade visual e quantificamos a necessidade de adição para a visão de perto.

A acuidade visual tem sido tradicionalmente o *gold-standard* para a avaliação do estado funcional do olho. O teste da acuidade visual avalia a capacidade do sistema visual em identificar o menor optótipo em condições de máximo contraste. No entanto, no quotidiano as condições visuais são diferentes consoante o meio ambiente em que o indivíduo está inserido. Os objetos que nos rodeiam apresentam múltiplos tamanhos e uma grande amplitude de contraste, tais como ocorre ao amanhecer, ao entardecer ou em dias enevoados. A visão humana adapta-se a padrões de contraste por mudanças, que ocorrem na sua sensibilidade perceptiva. O brilho de um objeto depende do seu contexto espacial, interpretação de cenários, da tridimensionalidade, de sombras e outros níveis superiores de percepção do objeto (61). A deteção de gradientes de luminância, conhecida por sensibilidade ao contraste, estabelece a base fundamental do processamento da visão (62). Esta informação visual é muito importante em muitas situações: comunicação interpessoal, orientação e mobilidade, tarefas domésticas, tarefas de leitura e de escrita (63, 64). A avaliação da função visual em baixo contraste acrescenta uma dimensão importante da avaliação de capacidade visual dos indivíduos. Clinicamente é possível que três indivíduos, com acuidades visuais semelhantes, apresentem três tipos diferentes de sensibilidade ao contraste espacial. Qualquer alteração nos meios oculares pode reduzir a sensibilidade ao contraste (65) e o olho seco, a manifestação inicial nos doentes PAF, pode causar redução da acuidade visual e da sensibilidade ao contraste espacial (66-70). Além de fornecer os nutrientes a estruturas avasculares como a córnea, as lágrimas também contribuem para a manutenção da regularidade da superfície ocular e para a qualidade da função visual (69, 71).

Nos nossos doentes PAF, as queixas de má qualidade visual pareciam-nos estar relacionadas com outros fatores para além do olho seco. Tal hipótese levou-nos a fazer uma avaliação do impacto nos doentes da deposição de amiloide na cápsula anterior do cristalino. Utilizamos o valor da sensibilidade ao contraste espacial determinado pelo aparelho de eletrofisiologia ocular da Metrovision®. Foram avaliados e comparados entre si os olhos do mesmo doente tendo um dos olhos deposição de amiloide na cápsula anterior do cristalino visível à

lâmpada de fenda, enquanto o olho adelfo não apresentava deposição visível. Ao comparar os olhos do mesmo doente, foram eliminados fatores confundidores como o grau de colaboração no estudo (72-75), a idade, o género, o tempo de doença e de transplante hepático. Não se observaram diferenças estatisticamente significativas nos resultados do teste de Schirmer e do TBUT, confirmando semelhante função lacrimal. A única variável foi apenas a deposição visível de amiloide na cápsula anterior do cristalino.

Os valores da sensibilidade ao contraste espacial encontravam-se significativamente diminuída em relação aos valores normais nos doentes PAF com boa acuidade visual, o que explica as frequentes queixas subjetivas. Os valores da sensibilidade ao contraste espacial estavam mais diminuídos nos olhos com deposição visível de amiloide na cápsula anterior do cristalino, do que no olho sem deposição visível. A diminuição dos valores da sensibilidade ao contraste espacial nos olhos sem deposição visível na cápsula anterior do cristalino pode dever-se a várias alterações, nomeadamente o olho seco e à possível deposição subclínica da amiloide na cápsula anterior do cristalino e no vítreo. Os olhos com a deposição visível de amiloide na cápsula anterior do cristalino apresentavam diminuição significativa dos valores da sensibilidade ao contraste espacial em todas as frequências testadas. As alterações observadas sugerem, que a avaliação da sensibilidade ao contraste espacial pode ser utilizada na deteção precoce e no acompanhamento da oculopatia endocular da PAF.

Os doentes PAF, graças aos tratamentos disponíveis, apresentam atualmente uma melhor qualidade de vida. Hoje, é frequente ver doentes ativos em todos os aspetos da vida quotidiana incluindo a nível laboral. As queixas de presbiopia mais precoce e a necessidade de maior adição para a visão de perto são frequentes e recorrentes. A acomodação torna-se eficaz por volta dos 4 meses de idade (76-78) e mantém-se adequada até próximo dos 40-50 anos, altura em que surge a necessidade de óculos para a visão de perto devido ao aparecimento da presbiopia (79). A visão de perto é fundamental para todas as populações, mesmo para os indivíduos iletrados (80, 81). A presbiopia está associada a um real decréscimo na qualidade de vida (82, 83).

Várias teorias de acomodação foram propostas, nomeadamente as de Tscherning (84), a sua variante por Scharchar (85, 86), e a de Coleman (87-89).

Apesar da controvérsia levantada pelos novos conceitos de cirurgia refrativa de recuperação da acomodação (90, 91), há uma evidência considerável e credível, que suporta a teoria de Helmholtz (92, 93). Esta teoria postula que a acomodação é controlada pela contração do músculo ciliar, aliviando a tensão zonular sobre o cristalino e levando ao aumento da sua esfericidade, através do deslocamento das cápsulas anterior e posterior. O papel da cápsula anterior do cristalino, pela sua maior elasticidade é determinante na alteração de forma do cristalino, aquando da acomodação, contribuindo com cerca de 5/6 do aumento da sua esfericidade (94-98). De todas as alterações das estruturas envolvidas na acomodação, relacionadas com o aumento de idade do indivíduo, a perda de elasticidade do cristalino e as alterações na espessura e na elasticidade da cápsula anterior, são as que mais contribuem para a presbiopia (99-105). Estas alterações do cristalino, nomeadamente a desnaturação das proteínas intrínsecas e desidratação relativa, podem ser consideradas a primeira etapa da catarata nuclear (106, 107). Devido à ausência de *turnover* macromolecular ao longo de décadas, ocorre a modificação das proteínas estruturais do cristalino e das suas membranas basais (108). O músculo ciliar mantém a sua função durante o envelhecimento normal do indivíduo (109).

Os doentes com PAF desenvolvem neuropatia autonómica, por vezes precoce e marcada (110, 111) e o músculo ciliar tem apenas inervação autonómica. A intensidade do sinal parassimpático para a acomodação pode estar diminuído, pois é transportado via nervo oculomotor (III par craniano) através do gânglio ciliar (112). Foi detetado, em exames anatomopatológicos *post-mortem* (32, 55), a deposição de amiloide no gânglio ciliar, bem como no corpo ciliar, explicando uma possível redução da força do músculo ciliar. A deposição na cápsula anterior do cristalino foi detetada clinicamente na observação à lâmpada de fenda e em exame anatomopatológico (26, 55, 113). Estas alterações poderiam afetar a acomodação nestes doentes, com peso relativo possivelmente diferente. No nosso estudo foram selecionados aleatoriamente dadores de sangue e doentes PAF, transplantados e não transplantados hepáticos. Os grupos foram homogeneizados para o género porque estudos prévios mostram que a presbiopia é significativamente mais prevalente, mais precoce e mais grave no sexo feminino (105, 114, 115).

Os olhos dos doentes PAF, sem deposição visível de amiloide na cápsula do cristalino, necessitaram de adição para perto mais precocemente e de uma maior adição para a mesma idade, quando comparados com o grupo dos dadores de sangue. Estas alterações agravam-se na presença de deposição visível de amiloide na cápsula anterior do cristalino. A maior necessidade de adição para perto nos olhos sem deposição de amiloide quando comparado com o grupo dos dadores de sangue pode estar associada à neuropatia do III par craniano e a deposição de amiloide no corpo ciliar. Contudo, é pouco provável que haja uma relação entre a presbiopia e a neuropatia, uma vez que os pares cranianos encontram-se poupados até muito tarde na evolução da PAF (116). A deposição da amiloide descrita no corpo ciliar é perivascular e não nas fibras musculares do ciliar, o que na nossa opinião, também não poderia explicar os dados encontrados (55). Acredita-se que, a coroideia contribui apenas para o ajuste fino da acomodação através da regulação do seu volume, via inervação autonómica (117). Foram observados depósitos de amiloide a nível da coroideia, estes demonstrados clinicamente através da angiografia por verde de indocianina e que poderão também contribuir para a diminuição na capacidade de acomodação, por aumento da rigidez e da incapacidade de regulação completa do volume da coroideia. Admite-se que estes fenómenos poderão ter uma importância relativamente pequena na população PAF.

Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas na visão de perto entre olhos de doentes transplantados e não transplantados hepáticos. O aparecimento *de novo* e/ou o agravamento da deposição de amiloide da cápsula anterior do cristalino após transplante hepático, sugere que a amiloide depositada tem origem endocular, não sendo influenciada pela ausência de TTR mutante (V30M) circulante promovida pelo transplante hepático.

Os nossos estudos suportam a teoria de acomodação de Helmholtz, chamando à atenção para a importância da cápsula anterior do cristalino no mecanismo da acomodação.

Devido ao crescente número de doentes PAF e à maior sobrevivência promovida pelo transplante hepático é previsível um aumento de doentes com boa qualidade de vida e a necessitarem de boa visão de perto, pelo que devemos estar atentos a estas alterações.

TRATAMENTO

O tratamento das múltiplas manifestações da oculopatia da PAF é, por si só, um enorme desafio na manutenção da função visual destes doentes.

Olho seco

É a manifestação mais precoce e frequente na PAF. O olho seco é, muitas vezes, agravado pela medicação tópica que estes doentes têm de fazer ininterruptamente. Olho seco é conhecido na literatura por várias terminologias, nomeadamente queratoconjuntivite *sicca*, síndrome do olho seco e mais recentemente foi proposta a designação de síndrome da lágrima disfuncional (118). Esta definição, proposta no *International Dry Eye WorkShop* em 2007, realça os sintomas e os mecanismos como um todo, reconhecendo a natureza multifatorial: “trata-se de uma doença multifatorial das lágrimas e da superfície ocular que resulta em sintomas de desconforto ocular, alteração da visão e instabilidade do filme lacrimal, com possibilidade de lesão na superfície ocular. É acompanhado por um aumento da osmolaridade do filme lacrimal e de inflamação da superfície ocular” (119).

A unidade morfo-funcional lacrimal inclui as glândulas lacrimais (a principal e as acessórias), a superfície ocular (epitélio da córnea, epitélio da conjuntiva bulbar e tarsal e células caliciformes), as pálpebras, as glândulas de Meibómio e os nervos sensitivos, motores e autonómicos associados (119, 120).

O filme lacrimal é constituído por 2 camadas: a mais interna, o mucogel e a camada lipídica, a mais externa. O mucogel é constituído por uma parte mucínica, produzida pelas células caliciformes da conjuntiva e por uma parte maior, aquosa, produzida na glândula lacrimal principal. A camada lipídica, a mais externa do filme lacrimal é composta por vários tipos de lípidos produzidos nas glândulas de Meibómio na margem palpebral. As funções do filme lacrimal são a lubrificação da superfície ocular e das pálpebras (121), a criação de uma superfície suave e oticamente regular, o fornecimento de nutrientes à superfície ocular, a remoção do material exógeno, a proteção contra patogéneos com substâncias antimicrobianas e a promoção da manutenção tecidual e da cicatrização (121-123).

A síndrome do olho seco, doença multifatorial do filme lacrimal e da superfície ocular, é um problema crescente de saúde pública com milhões de doentes em todo o mundo (124, 125) e uma das causas mais frequentes de consulta de oftalmologia (126, 127). Pode resultar em desconforto ocular e originar lesão da superfície ocular e alterações visuais, com impacto, por vezes marcado, na qualidade de vida do indivíduo (128, 129). A disfunção de qualquer componente da unidade morfo-funcional lacrimal pode conduzir à síndrome de olho seco por alteração do volume, da composição, da distribuição e/ou da *clearance* do filme lacrimal. Os dois grandes mecanismos do síndrome do olho seco são a deficiência aquosa e/ou aumento da evaporação, com hiperosmolaridade lacrimal e/ou instabilidade do filme lacrimal (119). O fator de perpetuação da patologia é a inflamação crônica da superfície ocular (118).

O olho seco é precoce e frequente nos doentes PAF, podendo atingir 80% dos olhos dos doentes. Sá (28) observou a presença de olho seco, de úlceras e de vascularização corneana nos doentes estudados com PAF. Rasteiro (130) apresentou um caso de queratite neurotrófica. Outros autores descreveram a diminuição de secreção lacrimal (49, 131-133) e mesmo perfuração corneana espontânea causada pela queratite neurotrófica (18). Estes autores apontaram a diminuição da secreção lacrimal como a causa principal do olho seco, parecendo estar relacionada com o grau de disautonomia e de neuropatia. Esta ideia foi reforçada por Okajima *et al.* (134), que apontou para uma alteração a nível da inervação parassimpática da glândula lacrimal, uma vez que a administração intramuscular de pilocarpina aumentava a secreção lacrimal. Inada *et al.* (135) demonstraram um ligeiro decréscimo nas proteínas específicas das lágrimas em 5 de 7 doentes estudados, levando-os a concluir que os doentes PAF apresentam também uma diminuição da produção proteica lacrimal.

O nosso estudo demonstrou que após o transplante hepático, apesar da quase ausência de TTR mutante (V30M) circulante extra-ocular, não há alteração da história natural do olho seco nos doentes PAF. Com o aumento de sobrevida destes doentes é de esperar o aumento da prevalência do olho seco, quer pelo aumento de tempo de duração da doença, quer pelo aumento da esperança de vida.

O olho seco na PAF é, provavelmente, mediado por múltiplos mecanismos que se potenciam mutuamente (Quadro 3). A polineuropatia causa disautonomia da

glândula lacrimal principal e das glândulas lacrimais acessórias e a neuropatia sensorial diminui a secreção reflexa, bem como a dificuldade em desencadear o reflexo do pestanejo. A deposição de amiloide na glândula lacrimal principal, demonstrada em exames anatomopatológicos (11), e o atingimento conjuntival com depósitos de amiloide nas paredes dos vasos sanguíneos e nas membranas basais do epitélio da superfície ocular contribuem, também, para a gênese do olho seco. Apesar de exames histológicos revelarem que as células caliciformes se encontram intactas (136), a deposição de agregados pré-fibrilares amiloidogénicos e a produção de citocinas pró-inflamatórias pode contribuir para a doença e a sua auto-perpetuação nos doentes com PAF (137-139).

Os fatores de risco para o olho seco nos doentes PAF são o fator nutricional, a medicação sistémica, as medicações tópicas oculares, e o aumento da esperança média de vida. O fator nutricional associado à má absorção digestiva dos doentes PAF pode originar diminuição de absorção de ácidos gordos e da vitamina A (140, 141).

QUADRO 3. Causas de Olho Seco no doente PAF

Deficiência aquosa	Insuficiência glândula lacrimal Primária: disautonomia glandular lacrimal Secundária: infiltração amiloidótica glândular lacrimal
	Hiposecreção reflexa: neuropatia sensorial
Evaporativa	Disfunção glândulas Meibómio: disautonomia glandular
	Alterações palpebrais: diminuição do pestanejo

A medicação sistémica muito utilizada nos doentes PAF (os antiespasmódicos, os antidepressivos e os imunossupressores) (140, 142-144), a medicação tópica ocular (colírios anti-glaucomatosos e lágrimas artificiais, frequentemente com conservantes) perpetuam o olho seco (145).

O tratamento do olho seco nos doentes PAF, tal como os restantes doentes, inclui o evitar dos fatores exacerbadores, a higiene palpebral, a suplementação com lágrimas artificiais, os sistemas de retenção lacrimal, a estimulação da secreção lacrimal e a utilização de agentes anti-inflamatórios tópicos (146, 147).

A suplementação com lágrima artificial é a pedra angular do tratamento do olho seco e está indicada em todos os estadios da doença, só ou em combinação com os outros tratamentos (148). Se for necessário uma utilização muito frequente, é recomendado utilizar lágrimas sem conservantes (145, 148). Vários estudos demonstraram que colírios de soro autólogo contribuem para a melhoria dos sinais e sintomas de olho seco grave e refratário (149-152). Contudo, o soro autólogo não está isento de riscos como é demonstrado pela resposta inflamatória exuberante à exposição das proteínas do soro (153), pela má utilização e conservação do soro por parte dos doentes, e o desconhecimento dos efeitos secundários na superfície ocular da exposição prolongada a essas proteínas (149). A colocação de *plugs* lacrimais, para retenção da lágrima, está indicada quando o olho seco se deve a deficiência aquosa na ausência de inflamação ou após o seu controlo (154). Nos doentes PAF, dado o carácter definitivo da sua patologia, poderá optar-se por oclusão cirúrgica definitiva, após demonstração de melhoria por oclusão temporária. As lentes de contacto terapêuticas, particularmente as esclerais, podem melhorar os sintomas de olho seco, através da retenção do filme lacrimal e, simultaneamente, promover a cicatrização da superfície da córnea. No entanto, as lentes de contacto podem exacerbar o olho seco e provocar outros efeitos deletérios na superfície ocular (155-157). A colocação de lentes de contacto terapêuticas obriga a uma monitorização muito apertada dos doentes PAF (155), o que por vezes se torna difícil devido às graves dificuldades de locomoção e de deslocação. Em situações refratárias de olho seco poderá estar indicado a tarsorrafia ou a sua variante menos drástica, a cantorrafia. Esta tem a vantagem de permitir manter a visão, a administração de medicação tópica e o exame oftalmológico regular (158, 159). A utilização de secretogogos como a pilocarpina ou a cevimelina já aprovadas pela *Food and Drug Administration* (FDA) como terapêuticas orais para a xerostomia, podem ser utilizadas como atitudes terapêuticas *off-label* no olho seco (160, 161). Porém, os efeitos secundários conhecidos destes secretogogos, como náuseas, diarreia e tonturas, podem ser mais nefastos nos doentes PAF. A literatura não descreveu até hoje nenhum efeito secundário grave em doentes não PAF (162-164). Os suplementos nutricionais com ácidos gordos essenciais podem teoricamente diminuir a inflamação e alterar a composição dos lípidos das glândulas de Meibómio (165-167). No entanto, a sua

eficácia não está totalmente demonstrada e na população PAF os efeitos secundários destes suplementos poderão originar efeitos gastrointestinais indesejáveis.

Vários estudos mostraram melhoria dos sinais e dos sintomas do olho seco com a utilização de corticoides e de ciclosporina tópicos, sendo esta última o único fármaco aprovado pela FDA para o tratamento do olho seco (145). Stevenson *et al.* (168) foram os primeiros a relatar o efeito clínico da emulsão de ciclosporina ocular na queratoconjuntivite *sicca*, constatando uma melhoria significativa dos sintomas e dos *scores* dos corantes oculares. Estudos posteriores demonstraram um aumento da produção lacrimal (teste de Schirmer), melhorias nas queixas visuais e uma diminuição da necessidade de frequência de aplicação de lágrimas artificiais (169). Mesmo em doentes com oclusão dos pontos lacrimais, foi demonstrada a sua eficácia (170) e a sua ação como modificador da doença, e não apenas como terapêutica substitutiva (146). A ciclosporina tópica demonstrou ter uma boa relação custo-benefício e promove a melhoria na qualidade de vida em doentes com olho seco moderado a grave, refratários à terapêutica convencional (171). A ciclosporina tópica é segura (172), não provoca catarata, não altera a capacidade de cicatrização corneana, não aumenta a taxa de infeções oculares e não provoca glaucoma (168, 169, 173, 174). Mostrou ser eficaz na síndrome de olho seco de diversas etiologias (175-178). Os efeitos farmacológicos conhecidos da ciclosporina tópica são resultado da diminuição dos linfócitos T ativados, da apoptose e da produção de citocinas pró-inflamatórias. Promove o aumento da densidade das células calciformes conjuntivais, aumento de produção de citocinas anti-inflamatórias e *shifts* de linfócitos T *helper*, originando uma diminuição da inflamação na superfície ocular externa (179).

Em Portugal, os únicos tratamentos disponíveis para os doentes PAF são as lágrimas artificiais, os *plugs* lacrimais e por vezes pulsos de corticoterapia tópica, com eficácia limitada nos casos graves de olho seco. Apesar da eficácia da ciclosporina tópica no olho seco grave ter sido amplamente demonstrada, existiam dúvidas da sua eficácia em doentes transplantados hepáticos, já sob terapêutica imunossupressora com ciclosporina oral. Foi pedido à Comissão de ética do Centro Hospitalar do Porto a utilização de colírios de ciclosporina comprados no estrangeiro pelos próprios doentes para o tratamento do olho

seco grave. Estes doentes já se encontravam sob terapêutica com lágrimas artificiais e submetidos a colocação de *plugs* lacrimais.

A ciclosporina tópica em doentes PAF comprovou o seu bom perfil de segurança já demonstrado e a sua eficácia no alívio de sintomas, melhorando os parâmetros objetivos e subjetivos. A supressão do processo inflamatório local, com a criação de um microambiente mais favorável à recuperação da integridade do epitélio corneano e ao aumento da estabilidade do filme lacrimal, foi demonstrado pela melhoria do *corneal punctuate fluorescein staining score* (CPFSS), do teste de Schirmer, do TBUT e da acuidade visual. Provavelmente devido a um componente estromal corneano que interfere com a visão, a melhoria de CPFSS, que demonstra a integridade do epitélio corneano, não foi exatamente paralela à melhoria da acuidade visual. Constatou-se que a melhoria do CPFSS aconteceu primeiro do que a melhoria da acuidade visual. A integridade do epitélio corneano facilita a transmissão de informação à glândula lacrimal através das vias neuronais sensoriais e autonómicas, melhorando a produção e composição da lágrima. O parâmetro subjetivo OSDI (*Ocular Surface Disease Index*) score, também melhorou significativamente, realçando que o benefício também foi sentido pelos doentes.

Apesar do reduzido número de doentes PAF, o nosso estudo foi prospetivo, com uma avaliação sequencial ao longo de 11 meses dos sinais e dos sintomas do olho seco, sob terapêutica com ciclosporina tópica. Concluímos que esta é eficaz no tratamento do olho seco grave mesmo em doentes transplantados hepáticos e já medicados com ciclosporina oral.

Amiloidose vítrea e glaucoma

A amiloidose vítrea ocorre geralmente numa fase posterior da doença, em relação ao olho seco. Está descrita como manifestação inaugural da doença (57, 180-187) ou única alteração (188) em doentes não portugueses. O transplante hepático não previne a deposição de amiloide vítrea e a diminuição da acuidade visual, com impacto psicológico marcado na vida quotidiana de doentes. Este fato, apesar de sistemicamente estarem estáveis, faz com que os doentes PAF transplantados hepáticos sintam a progressão da doença.

A vitrectomia é o único tratamento do vítreo opaco, com recuperação marcada da visão (189) e raras complicações (26, 47). É expectável que os resultados melhorem ainda mais, com a utilização de incisões de 23 e 25 *gauge* por rotina, que induzem menos alterações esclero-conjuntivais, não alteram os efeitos de cirurgia filtrante prévia e preservam as estruturas anatómicas para possíveis futuras cirurgias (190).

A maioria dos autores refere a recorrência da amiloidose vítrea após a vitrectomia, com nova deposição de amiloide na cavidade vítrea levando à diminuição da acuidade visual e necessidade de reoperação (10, 26, 40, 44, 47, 182, 191, 192). Nos anos recentes houve uma diminuição das referências na literatura à recorrência da amiloidose vítrea, provavelmente por melhoria da técnica cirúrgica, com cirurgia vítrea mais precoce e completa, isto é, a remoção o mais completa possível do vítreo. O vítreo anterior deve ser separado do cristalino antes da formação dos *pseudo-podis*. Para isso a vitrectomia deverá ser cautelosa e relativamente precoce.

No nosso estudo, a vitrectomia foi sempre iniciada pela indução de descolamento posterior do vítreo, mais fácil de executar do que seria espectável pela idade dos doentes. Especulámos que a aderência entre a hialoideia posterior e a retina está enfraquecida pela deposição de amiloide, mais intensa ao nível da hialoideia posterior. De seguida, efetuamos extração do vítreo em direção à periferia e, optou-se pela vitrectomia o mais completa possível com indentação efetuada pelo ajudante ou apenas até onde o sistema de visualização o permitia. A análise retrospectiva destes doentes mostrou que a recorrência da amiloide vitrea apenas ocorreu nos olhos em que não tinha sido efetuada uma vitrectomia completa. Os novos depósitos de amiloide foram observados nos olhos sem vitrectomia completa, isto é, apenas ocorreu no vítreo remanescente. O vítreo opacificado pode deslocar-se para o eixo visual ao longo do tempo e originar uma nova intervenção. De fato, não há verdadeira recorrência de amiloidose no vítreo, mas a continua deposição de amiloide no vítreo remanescente. O fator preditivo da recorrência vítrea foi o grau de remoção prévia do vítreo.

A amiloide TTR V30M deposita-se preferencialmente nas membranas basais do organismo (193). As fibras da matriz vítrea têm semelhanças estruturais e bioquímicas com o colagénio das membranas basais (36), principalmente com o

colagénio tipo II (35), onde a amiloide agrega por “sementeira” (37). Na ausência de matriz vítrea não existem condições para a deposição de amiloide após a vitrectomia completa e os precursores da amiloide são excretados do olho, antes que ocorra o crescimento da fibra de amiloide. Assim, devido à vitrectomia mais completa não há recorrência da amiloidose vítrea.

O estudo dos doentes submetidos a vitrectomia por opacidades vítreas fez sobressair a hipótese levantada por alguns autores que a vitrectomia como tratamento da amiloidose vítrea poderia aumentar o risco de desenvolvimento ou agravamento do glaucoma (47). Nos doentes PAF, o aparecimento do glaucoma pode ser súbito, evoluir rapidamente e provocar grave perda visual (191). Frequentemente, o glaucoma é de difícil controlo, obrigando à utilização de múltiplas terapêuticas, incluindo cirúrgicas (194). Com o transplante hepático, a sobrevida dos doentes aumentou consideravelmente e o glaucoma passou a condição mais prevalente.

Apesar de não haver unanimidade (195), existem estudos em doentes não PAF, que demonstraram, que a vitrectomia por si só pode estar implicada no desenvolvimento e agravamento do glaucoma de ângulo aberto mesmo na ausência de complicações cirúrgicas (196). Este agravamento dever-se-ia à mais fácil circulação do oxigénio após a extração do vítreo, com alteração do equilíbrio oxidante/anti-oxidante, criando um aumento do *stress* oxidativo sobre o trabéculo (196). Vários estudos implicam o *stress* oxidativo no desenvolvimento e no agravamento do glaucoma e os marcadores de *stress* oxidativo estão aumentados no humor aquoso dos olhos com glaucoma (197-204). A PAF também está associada ao aumento local e sistémico dos marcadores de *stress* oxidativo, o que pode contribuir para o agravamento do glaucoma (205-209). Alguns autores propõem que a deposição de TTR em doentes não PAF pode ter um papel no glaucoma de ângulo aberto, uma vez que estes doentes apresentam uma concentração mais elevada desta proteína no humor aquoso (210). Já no glaucoma congénito, a TTR encontra-se diminuída no humor aquoso (211).

A contínua produção local de TTR V30M pelo epitélio pigmentado da retina, mesmo após transplante hepático, associada à remoção cirúrgica do vítreo, permite a maior liberdade de circulação da TTR mutante e dos protofilamentos de amiloide na cavidade vítrea (37, 212, 213). Assim, os agregados de amiloide

podem atingir facilmente o trabéculo, seguindo as correntes do humor aquoso, promovendo a deposição de amiloide nos espaços intertrabeculares e no canal de Schlemm, como já observado através de microscopia eletrônica, em doentes PAF com glaucoma (214). Esta quantidade suplementar de agregador de amiloide que atinge o trabéculo deve ser adicionada à que é produzida pelo epitélio pigmentado do ciliar. Levantamos a hipótese, do desequilíbrio que ocorre a favor da hipertensão ocular ser originado pelo aumento dos fatores pro-amiloidogênicos que atingem o trabéculo. Observamos que os doentes PAF vitrectomizados têm uma progressão mais rápida para glaucoma quando comparados com doentes operados a descolamento de retina por vitrectomia, que têm sempre uma vitrectomia o mais completa possível. A maior incidência de glaucoma e início mais precoce após vitrectomia completa apoia a nossa hipótese. Sugerimos que o vítreo remanescente, deixado nos olhos nas vitrectomias incompletas, poderá atuar como o “filtro”, que retém os protofilamentos da TTR mutante e que promove a sua deposição. Assim, este vítreo remanescente origina um atraso na deposição da amiloide no trabéculo. O glaucoma aumenta a produção de TTR ocular (210) potenciando a deposição de amiloide e criando um ciclo de auto-potenciação. Na nossa opinião, as vitrectomias incompletas poderão proteger o trabéculo do *stress* oxidativo e dos agregados de amiloide, pós remoção do vítreo. Pensamos que os olhos dos doentes PAF, submetidos a vitrectomia, devem ficar com algum vítreo periférico remanescente para que haja proteção do trabéculo.

O glaucoma está associado a uma disfunção do sistema nervoso autónomo. Quer o glaucoma crónico de ângulo aberto, quer o glaucoma de tensão normal têm sido descritos em doentes com neuropatias sistémicas simpáticas e parassimpáticas, sugerindo um papel da disfunção autonómica na lesão glaucomatosa (215-218). O sistema nervoso autónomo também afeta o ritmo circadiano da pressão intraocular e a dinâmica do humor aquoso (219). Os doentes PAF têm atingimento do sistema nervoso autónomo precoce e por vezes marcado, com hipotensão ortostática e bradicardia (111, 220-222). Neste contexto, é provável uma deficiente regulação da circulação do nervo ótico (223) e, por isso, poderão necessitar de uma pressão intra-ocular alvo mais baixa (224-226).

A variação circadiana da pressão arterial está alterada nos doentes PAF, como também em doentes com outras formas de disautonomia (227). Foi observado que nas fases iniciais da doença PAF ocorria uma redução da normal descida da pressão arterial no período noturno. Com a evolução da doença ocorria mesmo a inversão do padrão circadiano com pressões arteriais mais elevadas durante a noite, apresentando frequentemente padrão não-*dipper* (111).

Não foi ainda determinada a relevância da deposição amiloide na coroideia para o aparecimento e para a evolução do glaucoma no doente PAF. A coroideia está envolvida na irrigação do disco ótico, contudo o grau de lesão glaucomatosa ainda não foi associada às diferentes espessuras da coroideia. Nos doentes não PAF com glaucoma ou suspeitos de glaucoma a espessura coroideia encontra-se associada à idade do indivíduo, ao comprimento axial do olho e à pressão diastólica de perfusão ocular (228). Assim, a deposição de amiloide na coroideia poderá ser um fator de agravamento da neuropatia glaucomatosa nos olhos dos doentes PAF.

O glaucoma é uma manifestação de um grupo muito heterogêneo de doenças com patofisiologia complexa e multifatorial. A diminuição da pressão intra-ocular é a pedra angular da abordagem terapêutica para todos os doentes incluindo os PAF. O tratamento não só atrasa ou previne o início do glaucoma em doentes com hipertensão ocular, como previne a perda visual progressiva no glaucoma já instalado. A diminuição da pressão intra-ocular nem sempre é conseguida, mesmo nos doentes não PAF, com consequente perda visual progressiva como é referido no *Ocular Hypertension Treatment Study* (OHTS), no *Collaborative Initial Glaucoma Treatment Study* (CIGTS) e no *Early Manifest Glaucoma Trial* (EMGT) (229-232). Além disso, o tratamento do glaucoma torna-se um desafio na determinação da pressão intra-ocular alvo à não progressão do glaucoma e no controlo, sistémico e ocular, dos efeitos secundários da medicação (233). Os doentes PAF são mais sensíveis aos efeitos secundários dos β -bloqueadores (fadiga, depressão, hipotensão, arritmia, diarreia, impotência sexual, olho seco), dos α -adrenérgicos (xerostomia, fadiga, hipotensão, olho seco), dos inibidores da anidrase carbónica (alterações gastrointestinais, parestesias, litíase renal) e das prostaglandinas (xerostomia, dores musculares, olho vermelho) (234).

Perante as conclusões dos artigos relacionados com a amiloidose vítrea, voltamos a recomendar a realização de vitrectomias extensas para evitar a recorrência da deposição de amiloide no vítreo, mas nunca a vitrectomia completa, para evitar o aparecimento ou agravamento do glaucoma. No futuro, caso a proposta de Kawaji *et al.* (235) demonstre a sua eficácia terapêutica, a vitrectomia das opacidades vítreas poderá ser complementada com uma panfotocoagulação na tentativa de reduzir a produção endocular TTR.

Devido ao enorme avanço no conhecimento dos mecanismos patofisiológicos do glaucoma, começam a emergir novas estratégias terapêuticas. Acredita-se que no futuro relativamente próximo, os agentes neuroprotetores entrarão no arsenal de terapêuticas disponíveis para o glaucoma.

Neuroproteção

A neuroproteção, atuando diretamente nos neurónios especialmente nas células ganglionares (236, 237), poderá complementar a terapêutica hipotensora ocular ou ser usada em alternativa quando os tratamentos hipotensores não puderem ser usados, por não serem tolerados ou não forem eficazes (236). Estudos em modelos animais determinaram os mecanismos moleculares de lesão das células ganglionares e os potenciais alvos dos agentes neuroprotetores, como seja a privação de vários fatores, tais como, os neurotróficos (neurotrofinas exógenas, agonistas do recetor das neurotrofinas), os de lesão excitotóxica (antagonistas receptor do glutamato, bloqueadores bloqueadores canais de cálcio), de *stress* oxidativo (sequestradores de radicais livres, inibidores da síntese do óxido nítrico), os de disfunção mitocondrial (antioxidantes, vasodilatadores), os da inflamação (inibidores de células imunes imaturas, de células T autorreativas, de autoanticorpos e da ativação do complemento), os de ativação de sinais intrínsecos e extrínsecos da apoptose (inibidores das caspases, inibidores da calpaína e inibidores do *tumor necrosis factor alfa* (TNF- α)), os da isquemia (vasodilatadores e bloqueadores canais de cálcio), os das proteínas desestruturadas (vacinas e outros mediadores imunes, proteínas *heat-shock*), os da falência de transporte axonal, os de disfunção sinática e os da modulação das células gliais (fatores de crescimento) (238-244). A eritropoietina (EPO) pode aparecer como um potencial tratamento neuroprotetor, de acordo

com alguns estudos que demonstraram o seu efeito benéfico, nas células ganglionares na lesão isquêmica aguda (210, 245). A EPO pertence à superfamília das citocinas tipo I (246). A sua produção, estimulada pela hipoxia, ocorre principalmente no rim e atua na medula óssea, regulando a eritropoiese no corpo humano (247, 248). A interação entre a EPO e o seu recetor (EPO-R) leva à inibição da apoptose, promovendo a diferenciação e a proliferação das células precursoras de normoblastos (247). Em 1990, foi descoberto que a EPO é expressa localmente por vários tecidos, além do rim (249). Estudos posteriores descreveram, que vários tipos de células, incluindo do sistema nervoso central, podem expressar a EPO e o seu recetor, particularmente como resposta ao *stress* físico e metabólico (246, 249-254). Estes estudos suportam a evidência que a EPO também tem um efeito autócrino-parácrino na resposta imune à lesão tecidual. A EPO poderá ter uma utilidade terapêutica como neuroprotetor, através de vários mecanismos que parecem estar implicados na lesão glaucomatosa: inibição da apoptose, diminuição do glutamato, diminuição do *stress* oxidativo, diminuição das citocinas pró-inflamatórias, recrutamento de *stem cells* e manutenção da autorregulação vascular (255). Foi proposto a administração de EPO exógena quando há agressão (256) e, ao contrário de outros possíveis neuroprotetores sob investigação, a EPO tem a capacidade de atravessar a barreira hemato-cerebral e hemato-ocular em quantidade terapêutica (257-260).

Grimm *et al* (258) em 2002 foram os primeiros a investigar a ação da EPO no olho. Os benefícios da neuroproteção da EPO exógena foram confirmados num estudo posterior de lesão retiniana (261). No glaucoma a utilização de EPO exógena foi investigada em três trabalhos realizados em modelos animais com aparente sucesso (262-264). No entanto, o entusiasmo inicial à volta dos potenciais benefícios como neuroprotetor diminuiu face à possibilidade de efeitos adversos com o uso prolongado de doses terapêuticas. São efeitos secundários conhecidos da administração sistémica: a exacerbação da hipertensão arterial (poderá ser benéfica nos doentes PAF, muitas vezes hipotensos), a policitemia vera, o tromboembolismo (265-271) e o aumento da angiogenese em doentes com retinopatia diabética (272). Para minimizar os efeitos secundários, terá de se alterar o modo de administração ou desenvolver derivados da EPO com efeito neuroprotetor, mas sem efeito eritropoiético. São exemplos, a EPO carbamilada

e a asialoEPO, que mantêm a possibilidade de atravessarem a barreira hemato-encefálica e possivelmente a hemato-ocular (273-276). A utilização intravítrea não demonstrou lesão da função retiniana avaliada por eletrorretinograma (277). Foi estudada em modelos animais de secção do nervo ótico (278) e de glaucoma (279), demonstrando também o seu benefício.

Alguns autores demonstraram que a EPO se encontra elevada no humor aquoso dos doentes com glaucoma e que este aumento não está relacionado com o aumento da EPO sistémica (280-283). O aumento poderá ser devido à estimulação da produção endocular e/ou ao aumento da passagem através da barreira hemato-ocular, uma vez que foi descrito um aumento de concentração de proteínas totais no humor aquoso de doentes com glaucoma de ângulo aberto (284). A EPO atuaria como um agente neuroprotetor endógeno.

Está descrito, que a anemia é uma manifestação comum nos doentes PAF portugueses e a baixa produção endógena de EPO assume um papel fulcral na sua génese. A produção inadequada pode ocorrer mesmo em “doentes” pré-sintomáticos, isto é, sem nenhuma das manifestações iniciais clássicas da doença (285). O nosso estudo confirmou, que a EPO no humor aquoso de doentes não-PAF com glaucoma encontra-se em concentrações mais elevadas comparados com os doentes controlo, sem glaucoma. Apesar da produção inapropriadamente baixa da EPO nos rins dos doentes PAF, o nível basal no humor aquoso encontrado nestes doentes (doentes PAF sem glaucoma), não é estatisticamente diferente quando comparada com o grupo controlo. Na presença de glaucoma, a diferença torna-se significativa com aumento da concentração da EPO no humor aquoso em doentes não PAF e a ausência de aumento nos doentes PAF. Não foi encontrada correlação estatisticamente significativa entre a concentração de valor de EPO no humor aquoso e no soro. Também não foi encontrada correlação estatisticamente significativa entre as concentrações da EPO no humor aquoso dos doentes com glaucoma, quer com a tensão ocular pré-operatória e, quer com a “*mean deviation*” dos campos visuais. A EPO não parece apresentar maior expressão em olhos com pressões intra-oculares mais altas nem com uma maior perda de células ganglionares. Fica assim demonstrada, que a nível endocular, a incapacidade de aumento da concentração de EPO na presença do glaucoma em doentes PAF, sugerindo então uma menor neuroproteção nestes doentes com glaucoma. Assim,

sugerimos a necessidade de terapêutica anti-glaucomatosa mais agressiva nos doentes PAF para prevenir a progressão das lesões glaucomatosas. Convém realçar, as implicações da proposta de Kawaji *et al.* (235) de pan-fotocoagulação dos olhos dos doentes PAF com risco de progressão de oculopatia endocular. Ao destruir as células de epitélio pigmentado da retina para diminuir a produção de TTR mutante, também é diminuída a produção de TTR nativa e a produção de EPO (neuroprotetores).

Vários estudos sugerem que os agregados pré-fibrilares e que os protofilamentos da amiloide, observados numa fase precoce da doença, são citotóxicos (286) e permanecem em estadios mais avançados da doença, em coexistência com fibras de amilóide bem estruturadas. Os agregados pré-fibrilares podem induzir a expressão de marcadores de *stress* oxidativo, de moléculas pró-apoptose e de citocinas pró-inflamatórias (287, 288), através da sua ligação aos recetores de produtos de glicosilação avançada (RAGE). A ativação dos RAGE pela TTR mutante, solúvel e fibrilar, contribui para a ativação de uma cascata de sinalização mediada por cinases específicas (ERK) e ativação do fator de transcrição nuclear kB (NF-kB), contribuindo para a morte celular (287-291). Os fatores de transcrição NF-kB, GATA-2 e o HIF (fator induzido pela hipoxia) são os fatores reguladores chave da expressão do gene da EPO (292-294). O HIF induz a expressão da EPO em condições de hipoxia enquanto o GATA-2 e o NF-kB inibem a sua expressão. Estes mediadores e outros envolvidos no *stress* oxidativo e apoptose podem ser ativados pela TTR mutante não fibrilar e inibir a produção de EPO.

Nos doentes PAF com glaucoma foi demonstrado uma menor neuroproteção endógena e, por outros autores, um *stress* oxidativo sistémico aumentado (209). Seria importante avaliar a utilização da EPO intravítrea nos doentes PAF com glaucoma, como também o efeito da EPO administrada sistemicamente por anemia nos doentes PAF com glaucoma. São necessários mais estudos para compreensão dos efeitos da administração de EPO no glaucoma. Para este fim, os doentes PAF seriam o modelo de estudo ideal.

Angiopatia amiloidótica da retina

Alguns olhos PAF vitrectomizados pareciam evoluir para uma retinopatia periférica de etiologia provavelmente semelhante à angiopatia amiloidótica cerebral. A angiopatia amiloidótica cerebral é uma entidade em que há deposição vascular de amiloide, causada por várias patologias, nomeadamente a PAF (295-300). Os vasos do olho são estruturas anatómicas semelhantes aos do sistema nervoso central, pelo que será de esperar que também possam estar envolvidos. A angiopatia amiloidótica da retina e da coroideia é considerada uma entidade rara na PAF TTR V30M (8, 26, 194). Na nossa casuística a prevalência foi de 4,4% dos doentes, sendo mais frequente naqueles com tempo de duração da doença maior. Foi também mais frequentemente encontrada em olhos que desenvolveram amiloidose vítrea, pela maior facilidade de circulação dos precursores de amiloide pós remoção cirúrgica do vítreo. Esta livre circulação dos precursores origina a impregnação de amiloide nas paredes dos vasos periféricos da retina.

As primeiras descrições da angiopatia amiloidótica retiniana na PAF ocorreram logo na observação per-operatória dos doentes, aquando da realização da vitrectomia. “Alterações vasculares periféricas” foram descritas por Hamburg (301) e Falls *et al.* descreveram “gliose periférica” (302). Tsukahara e Matsuo (30) reportaram deiscência fluorosceínica microvascular retiniana, hemorragias em borrão equatoriais e vasos “fantasma” embainhados, num doente com amiloidose. Savage *et al.* (44) reportaram anormalidades microvasculares retinianas, incluindo neovascularização periférica. Dunlop *et al.* (58) descreveram um caso em que 9 meses pós vitrectomia, por opacidades vítreas, apresentava neovascularização retiniana e extensa oclusão vascular retiniana periférica. Kojima *et al.* (56) relataram um caso clínico após vitrectomia, que mostrou a retina com hemorragias em borrão, embainhamento vascular, microaneurismas e deiscência venosa da fluorosceína. No caso por nós estudado, o doente apresentava na angiografia com verde de indocianina, múltiplos pontos de hiperfluorescência por impregnação vascular ao longo das principais veias coroideias, que aumentava nas fases tardias. Estes pontos hiperfluorescentes significam impregnação das paredes vasculares coroideias e são provavelmente causados por deposição de amiloide na parede vascular, levando à sua lesão.

Esta deposição foi já anteriormente descrita num estudo *post-mortem*, onde foi encontrado no exame anatomo-patológico deposição de amiloide nos vasos retinianos e nos vasos coroídeos. A maioria dos vasos apresentava deposição de amiloide na parte externa da parede vascular, pensamos nós nas fases iniciais da impregnação e em alguns vasos, a infiltração envolvia também a parte interna da parede vascular levando à sua oclusão (303). O significado clínico desta alteração é incerto. Em alguns casos poderá originar a obstrução vascular massiva coroídea, já descrita por Lemaitre-Labilloy *et al.* (304) num doente, que sofreu uma anemia hemolítica aguda durante a hemodiálise, complicada de trombose microvascular com oclusão aguda da coroídea e perda da visão.

No caso clínico por nós apresentado, o doente tinha 18 anos de tempo de duração de doença e já submetido a transplantação do fígado. Tal como em outros casos clínico descritos, foi submetida a vitrectomia por opacidades vitreas. Ao exame oftalmológico apresentava acuidade visual corrigida de 0,05 (escala de Snellen). À biomicroscopia revelou neovasos da íris, edema de córnea, e hipertensão ocular (42 mmHg). Não foi possível realizar a fundoscopia por opacidades dos meios. Foi diagnosticado glaucoma neovascular e iniciada terapêutica tópica com fármacos das 4 classes terapêuticas, com eficácia reduzida. Na ausência de resposta terapêutica adequada, decidimos com o consentimento do doente, administrar ranibizumab intravítreo, decisão sustentada nos resultados da utilização de ranibizumab em outros glaucomas neovasculares associados a retinopatia diabética (305), trombozes venosas (306) e outras patologias vasculares (307), bem como no estudo de O'Hearn *et al.* (308), que encontraram níveis vítreos elevados de fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) em doentes PAF. Foi criada uma janela que permitiu a observação do fundo de olho e a realização de angiografias fluoroscópica e de verde indocianina. Após confirmação do diagnóstico, foi efetuada a fotocoagulação das áreas afetadas, tal como descrito por outros autores (Savage, Dunlop, O'Hearn, Kawaji).

Foram descritas trombozes venosas oculares em doentes PAF (26), no entanto a observação do fundo de olho e das imagens da angiografia fluoroscópica não eram compatíveis com o diagnóstico. O nosso caso clínico apresentava em quase 360° da periferia da retina, embainhamento vascular, oclusão vascular abrupta, microaneurismas, hemorragias em borrão e reperfusão vascular.

Na angiografia fluorosceínica periférica foi possível observar a oclusão vascular, a impregnação vascular e os microaneurismas. Não observamos neovasos, pois possivelmente terão regredido sob o efeito do ranibizumab. A forma de distribuição da área afetada na retina do nosso doente, não é de todo compatível com o diagnóstico de trombose venosa referido por outros autores (26). Não encontramos correspondência entre os pontos de hiperfluorescência coroideia e as alterações encontradas na angiografia fluorosceínica e na observação de fundo de olho.

O exame oftalmológico dos doentes FAP deverá sempre incluir uma observação detalhada da periferia retiniana complementada, se necessário por angiografia fluorosceínica, de modo a serem detetadas precocemente alterações vasculares da angiopatia amiloidótica retiniana, com particular ênfase nos doentes com antecedentes de amiloide vítrea. A terapêutica profilática com fotocoagulação LASER é eficaz a longo prazo, como é demonstrado neste caso e noutros que acompanhamos em consulta (dados não publicados). A fotocoagulação LASER retiniana também foi proposta por Kawaji *et al.* como indutor de lesão do epitélio pigmentado da retina, local importante da produção da TTR endocular, de modo a parar a progressão da amiloidose vítrea e do glaucoma. Dado que a pan-fotocoagulação destrói apenas cerca de 30% das células do epitélio pigmentado da retina, não parece verosímil a sua eficácia. Estes autores postularam, que haveria destruição do microambiente em torno das células de epitélio pigmentado da retina, alterando a capacidade de formação de amiloide.

TRANSPLANTE HEPÁTICO E OCULOPATIA

Devido à produção predominantemente hepática da TTR o transplante hepático foi concebido como tratamento da PAF baseado no conceito da substituição da TTR mutante exclusivamente por TTR normal. Em 1990, um grupo sueco propôs e efetuou o primeiro transplante hepático como tratamento da PAF. Este avanço terapêutico foi excecional, uma vez que ficou demonstrado a rápida e a importante diminuição da proteína anormal no sangue (309, 310). Até então, a PAF era uma doença devastadora, com degradação progressiva e inexorável dos doentes, levando à sua morte, em 10 a 15 anos após o início dos primeiros

sintomas (311- 314). A maior parte dos doentes portugueses com PAF tem uma idade de início de doença precoce (315) e até ao início do transplante hepático nenhum tratamento tinha demonstrado a estabilização ou a diminuição da progressão da doença (316). Os primeiros doentes PAF a serem transplantados apresentaram uma mortalidade elevada, pois encontravam-se gravemente atingidos pela doença à data do transplante hepático (26). Desde então, muitos outros doentes PAF foram submetidos a transplante hepático em todo o mundo. Em Portugal foram efetuados mais de metade dos transplante hepáticos em doentes PAF espalhados pelo mundo (317). Os primeiros 40 casos Portugueses tiveram os seus resultados publicados em 1995 (318).

Apesar de algumas publicações discordantes (319, 320), a maioria dos artigos publicados concordam que, o transplante hepático altera a progressão da doença (317, 318, 321-324). O transplante hepático interrompe a evolução da neuropatia em 70% dos doentes e duplica a mediana de sobrevida dos doentes com doença de início precoce (325-327). No entanto, tornou-se evidente que a maior parte da lesão multiorgânica da PAF é irreversível. Assim, o primeiro objetivo do transplante hepático é a preservação do estadio da doença. Atualmente, o transplante hepático está contraindicado em doentes com doença avançada, grupo que tem vindo a diminuir drasticamente em número. A esperança média de vida tem aumentado significativamente nos últimos anos (324).

Como resultado da manutenção da síntese ocular de TTR mutante, os doentes PAF transplantados ao fígado continuam em risco de desenvolver complicações oftalmológicas, algumas delas ameaçadoras da visão. Em 2000, Muñar-Qués *et al.* descreveram um caso de amiloidose vítrea, dois anos após transplante hepático (328). Em 2002, Haraoka *et al.* (113) utilizaram a espectrometria de massa para demonstrar a presença de TTR mutante no humor aquoso, num doente PAF transplantado submetido a cirurgia de catarata. Ficou assim demonstrado, em definitivo, a continuação da existência de TTR mutante endocular, mesmo após o transplante hepático. Em 2008, Sandgren *et al.* apresentaram as manifestações oculares após o transplante hepático em doentes suecos com PAF V30M (26). O estudo envolveu 48 doentes com uma média de idade de início de doença de 42 anos e um tempo de transplante médio de 4,6 anos. Para determinar o envolvimento ocular, avaliou a presença

de opacidades vítreas, de deposição da amiloide no bordo pupilar e superfície do cristalino, de glaucoma e iris denteada. No nosso estudo o atingimento oftalmológico foi determinado pela presença de alterações vasculares da conjuntiva, de olho seco (teste de Schirmer e TBUT), de deposição de amiloide na iris, de deposição de amiloide na cápsula anterior do cristalino, de iris denteada, de amiloidose vítrea, de angiopatia amiloidótica retiniana e de glaucoma. Os doentes suecos apresentavam a deposição de amiloide na cápsula anterior do cristalino e na íris como manifestação mais comum, enquanto no nosso estudo foi o olho seco. Os doentes suecos não apresentavam diferenças estatisticamente significativas no aparecimento das opacidades vítreas entre transplantados e não transplantados hepáticos. É importante realçar que os doentes suecos apresentam fenótipos diferentes dos portugueses e japoneses, com doença de início mais tardio, com melhor prognóstico, menor gravidade de sintomas e maior sobrevida (329).

Em 2010, Hara *et al.* (38) apresentaram um estudo sobre o impacto do transplante hepático na amiloidose ocular em doentes japoneses. Foram estudados 52 doentes ATTR V30M, 22 dos quais sujeitos a transplante hepático. Neste estudo foram avaliadas a deposição de amiloide na íris, a íris denteada, a amiloidose vítrea e o glaucoma. Utilizaram a presença de amiloidose do vítreo como marcador da presença de oculopatia da PAF. O tempo médio de doença PAF foi de 10 anos e tempo médio de transplante de 7 anos. Observaram que a prevalência de todas as manifestações oculares aumentou após o transplante. Devido à grande diferença de idades de início de doença entre transplantados e não transplantados (39 versus 53 anos), compararam o aparecimento das opacidades vítreas apenas nos doentes com doença de início precoce. Assim, foram apenas incluídos 6 doentes transplantados e 3 doentes não transplantados. O tempo médio de doença até ao aparecimento de opacidades vítreas foi significativamente inferior nos doentes transplantados em relação aos não transplantados (4,7 versus 9,7 anos). Em conclusão, os autores afirmaram que o transplante hepático era responsável por um aparecimento mais precoce da amiloidose do vítreo.

Era espectável que o transplante hepático pudesse alterar a evolução, pelo menos, das manifestações oftalmológicas extraoculares relacionadas com a circulação sistémica de TTR mutante, como o olho seco e as alterações

vasculares conjuntivais. Quanto às características dependentes da produção endocular, como a deposição de amiloide no cristalino e na íris, as opacidades vítreas, a íris denteada, o glaucoma e a angiopatia amiloidótica da retina, havia algumas dúvidas na influência do transplante hepático. No nosso estudo, de modo a uniformizar melhor as amostras, emparelhamos 64 doentes (128 olhos) transplantados e não transplantados (data do transplante hepático considerado tempo 0), para as características conhecidas que influenciam o fenótipo da doença e assim permitir a comparação entre elas: a idade do doente, o género, a idade de início da doença, o tempo de doença, o estadiu neurológico, o estado nutricional e o progenitor-transmissor. Foram separados em 3 grupos, de acordo com o tempo de doença após o transplante de cada doente: 5 anos, 10 anos e 15 anos. Tal como o encontrado por outros autores, as manifestações oftalmológicas da PAF aumentaram com o tempo de doença em doentes transplantados e não transplantados.

Comparando entre si os grupos de doentes com 5 anos de doença, com 10 anos de doença e com 15 anos de doença, observamos que o transplante hepático tinha um efeito protetor inicial até aos 10 anos, em relação ao aparecimento de anormalidades vasculares da conjuntiva. Este efeito protetor desaparece no grupo com 15 anos de duração da doença. A prevalência do teste de Schirmer alterado foi a única manifestação ocular estudada, que apresentou uma diferença significativa entre os olhos dos grupos transplantados e não transplantados ($P=0.002$), com maior prevalência nos não transplantados (81,2% versus 56,2%). Comparando as alterações no teste de Schirmer entre os grupos de doentes com diferentes tempos de doença após, há um efeito protetor aos 5, 10 e 15 anos, cuja diferença se aproxima do significado estatístico ($P=0.071$). Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas, em relação ao TBUT, à deposição de amiloide na íris, à íris denteada e ao glaucoma, nos grupos de 5, 10 e 15 anos de duração de doença. O transplante hepático agravou a deposição de amiloide na cápsula anterior do cristalino e as opacidades vítreas, nos grupos de 5 e 10 anos. No entanto, o grupo com 15 anos mostra, nos doentes transplantados, uma redução da prevalência destas características. Neste estudo, a angiopatia amiloidótica retiniana foi uma alteração oftalmológica rara.

De todas as alterações oftalmológicas estudadas, apenas a prevalência do teste de Schirmer anormal, apresentou diferença significativa entre doentes transplantados e não transplantados hepáticos. Este significado estatístico é perdido quando as alterações são comparadas entre os grupos de diferentes tempos de doença após transplante hepático. O controlo da glândula lacrimal principal é feito através da inervação autonómica, simpática e parassimpática (330). Na PAF, dois mecanismos complementares poderão estar associados à diminuição da secreção da glândula lacrimal principal, que são a neuropatia autonómica (331) e a deposição de amiloide na própria glândula lacrimal principal (11). Se considerarmos que a neuropatia autonómica diminui de modo semelhante o teste de Schirmer e o TBUT, deduzimos então que o transplante hepático, com um efeito protetor para o teste de Schirmer, pode originar uma diminuição da deposição de amiloide na glândula lacrimal. É de salientar porém, que as glândulas de Meibómio são muito mais innervadas pelo sistema nervoso autónomo parassimpático (16, 332, 333), podendo explicar as diferenças estudadas na PAF.

A ausência de efeito estatisticamente significativo do transplante hepático nas alterações oftalmológicas ao longo do tempo poderá dever-se a vários fatores, que podem concorrer com peso diferente. Após o transplante hepático, a TTR normal poderá continuar a depositar-se nos “ninhos” pré-formados de TTR mutante mantendo a progressão da doença, com um mecanismo semelhante ao encontrado na progressão da cardiopatia da PAF (334-336). Uma outra razão poderia ser que os doentes não transplantados terem ultrapassado os critérios para transplante hepático e falecido mais cedo, não aparecendo no nosso estudo. Provavelmente estes doentes teriam doença ocular mais agressiva e evolutiva. Esta possibilidade também poderia explicar o aparente agravamento das alterações endoculares nos primeiros anos e posterior perda desse efeito.

A TTR mutante circulante e, provavelmente, a TTR nativa, não atravessam a barreira hemato-ocular, sugerindo ausência de efeito direto do transplante hepático na evolução das manifestações endoculares da PAF. O uso de corticoides, frequentemente utilizados como terapêutica de indução imunossupressora durante os primeiros meses / anos após o transplante hepático, associado ao *stress* psicológico do ato cirúrgico do próprio transplante,

aumentam a expressão endocular da TTR e podem contribuir para o agravamento da doença nos seus primeiros anos (337).

O nosso estudo evidenciou, que o transplante hepático não alterou significativamente a história natural da oculopatia. O tempo de doença é o fator mais importante a considerar na avaliação dos riscos de complicações oculares em doentes transplantados e não transplantados. Todos os doentes necessitam de um acompanhamento regular para toda a vida.

O nosso estudo de comparação do impacto do transplante hepático na oculopatia PAF não vai poder repetir-se, uma vez que todos os doentes PAF se encontram submetidos a transplante hepático ou então, sujeitos às novas formas de tratamento aprovadas ou em ensaios clínicos.

OCULOPATIA NA PAF IATROGÉNICA

Apesar do termo transplante dominó/sequencial ser do conhecimento generalizado na transplantação hepática, a primeira descrição de um transplante sequencial de um órgão envolveu um transplante coração-pulmão (338). Foi Linhares-Furtado quem, em 1995 (339, 340), efetuou o primeiro transplante hepático sequencial, usando um fígado de um doente PAF como órgão para um doente com metástases hepáticas. Nos 2 anos seguintes, a aceitação pela comunidade científica levou ao incremento desta prática, o que permitiu o aumento de órgãos disponíveis e a reutilização do fígado PAF. Este órgão é funcional e morfológicamente normal, apenas com um defeito genético que condiciona a produção de uma proteína anómala amiloidogénica (341-344). Como a PAF se torna sintomática geralmente depois dos 20 anos de idade do doente e progride durante uma década (345), acreditava-se inicialmente que não haveria deposição significativa de amiloide durante um longo período de tempo. Com a seleção adequada dos recetores de fígados de doentes PAF, o transplante sequencial parecia uma opção razoável em doentes com uma esperança de vida diminuída.

Após a publicação de Stangou *et al.* em 2005 (346), tornou-se evidente, que a transferência clínica da doença ocorria muito mais cedo do que inicialmente era

previsto. Nesta evolução mais rápida que o esperado, estão possivelmente envolvidos aumento dos mecanismos de fibrilogenese e/ou sub-regulação das vias inibitórias (347). Poderá estar associado com o *stress* pós transplante hepático condicionado pela inflamação, por infecções *de novo* ou pela reativação de infecções virais latentes e por episódios de rejeição (348). Também podem contribuir para a antecipação da doença, o trauma cirúrgico, a doença prévia, a imunossupressão e a presença de um ambiente favorável à deposição de TTR mutante criada por depósitos de TTR nativa no adulto.

Colocou-se também a questão sobre as implicações na sobrevida dos doentes PAF que eram referenciados como doadores de fígado, sujeitos a cirurgias mais complexas e prolongadas. O trabalho de Eduardo Barroso, realizado em 2012, em recetores de fígados PAF (tese de doutoramento), demonstrou que a sobrevida aos 5 anos dos doentes PAF, que foram doadores é superior à sobrevida dos doentes que não o foram (87% versus 71%, $P=0,047$). Quanto aos recetores de fígado PAF, observou-se que havia um benefício na morbimortalidade no curto prazo e na sobrevida a longo prazo, embora com diferença não estatisticamente significativa.

A passagem da TTR mutante através da barreira hemato-nervo (347) e da barreira hemato-encefálica (349) foi demonstrada. Se o mesmo ocorrer na barreira hemato-ocular, os recetores de fígado PAF estariam em risco de desenvolver oculopatia associada à amiloidose por TTR V30M. Avaliamos um grupo de doentes recetores de fígado PAF, com uma média de 6 anos de transplante, por doença hepática alcoólica. Nestes doentes a disfunção autonómica é frequente, caracterizada por uma diminuição da atividade parassimpática e aumento da atividade simpática, com uma patogénese ainda mal conhecida (350-354). Foram criados 2 grupos de doentes, recetores de fígado de PAF e não PAF, com idade, tempo de espera para o transplante hepático e a idade de início da patologia hepática semelhantes. Homogeneizamos os grupos para a imunossupressão porque diferentes protocolos de imunossupressão causam vários graus de olho seco, o que seria um viés no nosso trabalho (355). Todos os parâmetros oftalmológicos possivelmente afetados pela TTR mutante proveniente da circulação sistémica foram avaliados, como a disfunção autonómica (teste de Schirmer, TBUT e a pupilometria estática e dinâmica) e a deficiência da glândula lacrimal por

deposição direta da amiloide (teste de Schirmer). Foi realizada a pupilometria com o aparelho de eletrofisiologia ocular da Metrovision®. A pupilometria é um teste não invasivo para estudo da função do sistema nervoso autônomo, que necessita para ser efetuado apenas de uma cooperação mínima do doente (356, 357). Os diâmetros pupilares estáticos sob condições de luminosidade padronizadas (358), e vários parâmetros dinâmicos estão bem correlacionados com a função autonômica e com a neuropatia (359). Nos doentes PAF, a pupilometria poderá ainda ser influenciada pela deposição de amiloide na íris, que origina o aumento da sua rigidez. Este exame permite a detecção subclínica da disfunção autonômica (360, 361). Os parâmetros da pupilometria considerados ligados ao sistema nervoso simpático são o diâmetro pupilar, a velocidade de dilatação e a latência de contração. Os parâmetros ligados habitualmente ao sistema nervoso parassimpático são a amplitude, a velocidades de contração e a latência de dilatação. Nenhum parâmetro lacrimal e/ou disautonômico apresentou diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos.

As alterações endoculares são as manifestações oftalmológicas mais temidas da PAF, porque podem levar à cegueira irreversível. Nos doentes recetores de fígado de PAF do nosso estudo, após 6 anos de seguimento não foi detetada qualquer deposição de amiloide na cápsula anterior do cristalino (nem alteração da necessidade de adição diferente para a visão de perto) ou na íris, glaucoma, amiloidose vítrea ou angiopatia amiloidótica. Isto poderá ser devido, à não passagem através da barreira hemato-ocular (hemato-retiniana e/ou hemato-aquosa) da TTR mutante em quantidade suficiente para provocar alterações ou por o tempo de seguimento não ser suficiente.

O olho dispõe de uma fronteira restritiva à permeabilidade, a barreira hemato-ocular, criada pelo endotélio dos capilares da retina, da íris, do corpo ciliar e do epitélio pigmentado da retina. Embora exista comunicação entre o humor aquoso e o vítreo, a barreira hemato-ocular é diferente no segmento anterior (a barreira hemato-aquosa) e no segmento posterior (a barreira hemato-retiniana). A barreira hemato-ocular (BHR) é caracterizada pela sua seletividade e pela orientação do transporte das substâncias feito maioritariamente do humor vítreo para a corrente sanguínea. Isto requer um transporte ativo que cria um equilíbrio microambiental à volta da retina. Esta barreira é constituída por 2 elementos: a

BHR interna, localizada entre os capilares retinianos e a retina neurosensorial, e a BHR externa, ao nível do epitélio pigmentado da retina entre a coriocapilar e os fotorreceptores (362, 363). A barreira hemato-aquosa (BHA) regula as trocas entre o sangue e o humor aquoso envolvendo o corpo ciliar e a íris, onde são mais importantes os movimentos de entrada de substâncias no globo ocular. Esta barreira regula a nutrição da córnea e do cristalino, ambas estruturas avasculares (364, 365).

A avaliação da possível passagem de TTR mutante através da barreira hemato-ocular é essencial para a avaliação do risco de deposição de amiloide endocular nos recetores de fígado PAF. A TTR faz parte da constituição normal do humor aquoso (366). Foi colhido humor aquoso de um doente recetor de fígado PAF, durante uma cirurgia de catarata e enviado de imediato para o laboratório para determinação de TTR por duas técnicas (*Western blotting* e MALDI-TOF). No mesmo tempo foi colhido sangue para análise da TTR e foi confirmada a presença de TTR mutante V30M em circulação. No humor aquoso, apenas TTR nativa foi encontrada, esta produzida pelo próprio olho. Este trabalho demonstra a ausência de passagem de TTR mutante, através da barreira hemato-aquosa.

A diabetes mellitus é muito prevalente nos recetores de fígado dominó, podendo, com o passar dos anos, afetar quase 50 % destes doentes (367). É possível que, com o aumento da sobrevida, alguns venham a desenvolver retinopatia diabética. A diabetes mellitus está associada à quebra da barreira hemato-ocular, mesmo sem retinopatia diabética evidente, com deiscência da fluoresceína, que pode ser medida através da fluorofotometria (368, 369). Se o doente evoluir para retinopatia diabética e se necessitar realizar fotocoagulação retiniana, é provocada uma quebra adicional na barreira hemato-ocular (370). Nestes doentes, é possível ocorrer a passagem da TTR, com peso molecular de 55 kDa (371), menor que a fluoresceína com peso molecular de 376 kDa (372). A cirurgia de glaucoma, particularmente a colocação de válvula de Ahmed, poderá também causar alterações da barreira hemato-aquosa (373). Mesmo nestas condições, é expectável que a quantidade de TTR mutante que atravessa a barreira seja reduzida e insuficiente para que possa ocorrer agregação e fibrilogenese, fenómenos altamente dependentes da concentração (374, 375).

Apesar de não existir passagem de TTR mutante documentada através da barreira hemato-aquosa, podem continuar a ocorrer as manifestações

oftalmológicas de disautonomia e de deposição de amiloide na glândula lacrimal principal (11), independentes dessa barreira. Os doentes recetores de fígado PAF necessitam de um maior tempo de seguimento. O risco de patologia oftalmológica não é por nós considerada uma contraindicação para o transplante hepático sequencial.

BIBLIOGRAFIA

1. Andrade C. A peculiar form of peripheral neuropathy; familial atypical generalized amyloidosis with special involvement of the peripheral nerves. *Brain*. 1952 Sep; 75(3): 408-27
2. Jaworowski A, Fang Z, Khong TF, Augusteyn RC. Protein synthesis and secretion by cultured retinal pigment epithelia. *Biochim Biophys Acta*. 1995 Aug 17;1245 (1): 121-9.
3. Cavallaro T, Martone RL, Dwork AJ, Schon EA, Herbert J. The retinal pigment epithelium is the unique site of transthyretin synthesis in the rat eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1990 Mar 1; 31(3): 497-501.
4. Dwork AJ, Cavallaro T, Martone RL, Goodman DS, Schon EA, Herbert J. Distribution of transthyretin in the rat eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1990 Mar 1; 31(3): 489-96.
5. Kawaji T, Ando Y, Nakamura M, Yamamoto K, Ando E, Takano A, Inomata Y, Hirata A, Tanihara H. Transthyretin synthesis in rabbit ciliary pigment epithelium. *Exp Eye Res*. 2005 Sep; 81(3): 306-12.
6. Ando E, Ando Y, Maruoka S, Sakai Y, Watanabe S, Yamashita R, Okamura R, Araki S. Ocular microangiopathy in familial amyloidotic polyneuropathy, type I. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 1992; 230(1): 1-5.
7. Kimura A, Ando E, Fukushima M, Koga T, Hirata A, Arimura K, Ando Y, Negi A, Tanihara H. Secondary glaucoma in patients with familial amyloidotic polyneuropathy. *Arch Ophthalmol*. 2003 Mar; 121(3): 351-6
8. Ando E, Ando Y, Okamura R, Uchino M, Ando M, Negi A. Ocular manifestations of familial amyloidotic polyneuropathy type I: long-term follow up. *Br J Ophthalmol*. 1997 Apr; 81(4): 295-8
9. Sandgren O. Ocular Involvement in Familial Amyloidotic Polyneuropathy. *Tese Doutorado*. University Of Umeå. 1992
10. Sandgren O. Ocular amyloidosis, with special reference to the hereditary forms with vitreous involvement. *Surv Ophthalmol*. 1995 Nov-Dec; 40(3): 173-9
11. Sandgren O, Eriksson A. Lacrimal dysfunction in familial amyloidotic polyneuropathy (FAP), Swedish type. *Arquivos de Medicina*; vol.3, Special Issue, 1990:329-33
12. The definition and classification of dry eye disease: report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop (2007). *Ocul Surf*. 2007 Apr; 5(2): 75-92
13. Methodologies to diagnose and monitor dry eye disease: report of the Diagnostic Methodology Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop (2007). *Ocul Surf*. 2007 Apr; 5(2): 108-52

14. Sweeney DF, Millar TJ, Raju SR. Tear film stability: A review. *Exp Eye Res.* 2013 Dec; 117:28-38
15. González-Duarte A, Soto KC, Martínez-Baños D, Arteaga-Vazquez J, Barrera F, Berenguer-Sanchez M, Cantu-Brito C, García-Ramos G, Estañol Vidal B. Familial amyloidosis with polyneuropathy associated with TTR Ser50Arg mutation. *Amyloid.* 2012 Dec; 19(4): 171-6
16. LeDoux MS, Zhou Q, Murphy RB, Greene ML, Ryan P. Parasympathetic innervation of the meibomian glands in rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2001 Oct; 42(11): 2434-41
17. Rasteiro A. Neuro-paralytic keratitis in familial Portuguese amyloidosis of the Corino-Andrade type. *Bull Mem Soc Fr Ophtalmol.* 1986; 97: 212-4.
18. Abenham A, Hoang-Xuan T, Goichot-Bonnat L, Dhermy P, Pouliquen Y. A case of spontaneous corneal perforation in De Andrade's Portuguese amyloidosis. *Bull Soc Ophtalmol Fr.* 1988 Feb; 88(2): 223,226
19. Dosso AA, Rungger-Brändle E. Bilateral corneal perforation in familial amyloidotic polyneuropathy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2005 Mar; 243(3): 273-7. Epub 2004 Sep 28.
20. Ferrari G, Nalassamy N, Downs H, Dana R, Oaklander AL. Corneal innervation as a window to peripheral neuropathies. *Exp Eye Res.* 2013 Aug; 113:148-50.
21. Papanas N, Ziegler D. Corneal confocal microscopy: a new technique for early detection of diabetic neuropathy. *Curr Diab Rep.* 2013 Aug; 13(4):488-99
22. Shtein RM, Callaghan BC. Corneal confocal microscopy as a measure of diabetic neuropathy. *Diabetes.* 2013 Jan; 62(1): 25-6
23. Cruzat A, Pavan-Langston D, Hamrah P. In vivo confocal microscopy of corneal nerves: analysis and clinical correlation. *Semin Ophthalmol.* 2010 Sep-Nov; 25(5-6): 171-7.
24. Zhao C, Lu S, Truffert A, Tajouri N, Zhao K, Mateo Montoya A, Dosso A, Landis T, Safran AB. Corneal nerves alterations in various types of systemic polyneuropathy, identified by in vivo confocal microscopy. *Klin Monbl Augenheilkd.* 2008 May; 225(5): 413-7.
25. Rubinow A, Cohen AS. Scalloped pupils in familial amyloid polyneuropathy. *Arthritis Rheum.* 1986 Mar; 29(3): 445-7
26. Okajima T, Nagata J, Hatamoto K, Kinoshita Y, Takaba Y, Tokuomi H. Pharmacological studies of the pupils in familial amyloid polyneuropathy. *Ann Neurol.* 1978 Jul; 4(1): 80-4.
27. Davies DR, Smith SE. Pupil abnormality in amyloidosis with autonomic neuropathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1999 Dec; 67(6): 819-22.
28. Sa S. Sinais oculares da amiloidose. *Arq. Port. Oftal.* 1960;12:91-107.
29. Andrade L, Sa S. Sintomatologia ocular na paramiloidose. *Arq Port Oftal* 1962; 14:37-42603.
30. Tsukahara S, Matsuo T. Fluorographical findings in familial primary amyloidosis. *Ophthalmologica.* 1978; 176(6): 301-7
31. Plane C, Maupetit J, Colnet G, Tournilhac M. Ocular manifestations of Corino de Andrade's Portuguese amyloidosis. *Bull Soc Ophtalmol Fr.* 1977 Jan; 77(1): 123-5.
32. Inada K, Nakashima H, Baba H, Kojima Y, Okamura R, Araki S. Familial amyloidotic polyneuropathy: ocular manifestations with clinicopathological observation. *Jpn J Ophthalmol.* 1984;28(3): 289-98.

33. Barouch FC, Benson MD, Mukai S. Isolated vitreoretinal amyloidosis in the absence of transthyretin mutations. *Arch Ophthalmol*. 2004 Jan; 122(1): 123-5
34. McLaurin J, Yang D, Yip CM, Fraser PE. Review: modulating factors in amyloid-beta fibril formation. *J Struct Biol*. 2000 Jun; 130(2-3): 259-70
35. Bishop PN. Structural macromolecules and supramolecular organisation of the vitreous gel. *Prog Ret Eye Res* 2000; 19: 323–344.
36. Swan DA. Chemistry and biology of the vitreous body. *Int Rev Exp Pathol* 1980; 22:1–64.
37. Streeten BA. Disorders of the vitreous. In Garner A, Klintworth GK, eds. *Pathobiology of Ocular Disease - A Dynamic Approach, Part B*. New York, NY: Marcel Dekker; 1982:1381–1419.
38. Hara R, Kawaji T, Ando E, Ohya Y, Ando Y, Tanihara H. Impact of liver transplantation on transthyretin-related ocular amyloidosis in Japanese patients. *Arch Ophthalmol*. 2010 Feb; 128(2): 206-10
39. Kawaji T, Ando Y, Ando E, Sandgren O, Suhr OB, Tanihara H. Transthyretin-related vitreous amyloidosis in different endemic areas. *Amyloid*. 2010 Sep; 17(3-4): 105-8.
40. Koga T, Ando E, Hirata A, Fukushima M, Kimura A, Ando Y, Negi A, Tanihara H. Vitreous opacities and outcome of vitreous surgery in patients with familial amyloidotic polyneuropathy. *Am J Ophthalmol*. 2003 Feb; 135(2): 188-93
41. Ciulla TA, Tolentino F, Morrow JF, Dryja TP. Vitreous amyloidosis in familial amyloidotic polyneuropathy. Report of a case with the Val30Met transthyretin mutation. *Surv Ophthalmol*. 1995 Nov-Dec; 40(3): 197-206.
42. Imasawa M, Toda Y, Sakurada Y, Imai M, Iijima H. Vitreous opacities in a case of familial amyloidotic polyneuropathy associated with a transthyretin Lys 54. *Acta Ophthalmol Scand*. 2004 Oct; 82(5): 635-7
43. Salvador F, Mateo C, Alegre J, Reventos A, García-Arumi J, Corcostegui B. Vitreous amyloidosis without systemic or familial involvement. *Int Ophthalmol*. 1993-1994;17(6): 355-7.
44. Savage DJ, Mango CA, Streeten BW. Amyloidosis of the vitreous. Fluorescein angiographic findings and association with neovascularization. *Arch Ophthalmol*. 1982 Nov; 100(11): 1776-9.
45. Hitchings RA, Tripathi RC. Vitreous opacities in primary amyloid disease. A clinical, histochemical, and ultrastructural report. *Br J Ophthalmol*. 1976 Jan; 60(1): 41-54
46. Nelson GA, Edward DP, Wilensky JT. Ocular amyloidosis and secondary glaucoma. *Ophthalmology*. 1999 Jul; 106(7): 1363-6.
47. Monteiro JG, Martins AF, Figueira A, Saraiva MJ, Costa PP. Ocular changes in familial amyloidotic polyneuropathy with dense vitreous opacities. *Eye (Lond)*. 1991; 5 (Pt 1): 99-105
48. Tsukahara S, Matsuo T. Secondary glaucoma accompanied with primary familial amyloidosis. *Ophthalmologica*. 1977; 175(5): 250-62
49. Coutinho P, Da Silva, Lima J, Barbosa A. Forty years of experience with type 1 amyloid neuropathy. Review of 483 cases. *Amyloid and amyloidosis*. Excerpta medica. Amsterdam: Glenner GG, Costa PP, Freitas AF; 1980. P. 88-98
50. Frau E, Lautier-Frau M, Saindelle-Ribeaudeau F, Adams D, Bousquet A, Labétoulle M, Offret H. Familial amyloid polyneuropathy type I complicated by chronic glaucoma: 3 cases. *J Fr Ophtalmol*. 2000 Mar; 23(3): 217-20.
51. Clark CV, Mapstone R. Autonomic neuropathy in ocular hypertension. *Lancet*. 1985 Jul 27; 2(8448): 185-7

52. Soares JD, Alves M, Luis MLS, Pova P, Ferreira M, Serrao R, Carlos AGP; Autonomic function in familial amyloidotic polyneuropathy patients and relatives, in Costa PP, Freitas AS, Saraiva MJM (eds). *Familial Amyloidotic Polyneuropathy and other Transthyretin Related Disorders*. pp 271-274 (Arquivos de Medicina, Porto, 1990)
53. Pache M, Flammer J. A sick eye in a sick body? Systemic findings in patients with primary open-angle glaucoma. *Surv Ophthalmol*. 2006 May-Jun; 51(3): 179-212.
54. Isabel Sampaio, João Queirós, Pedro Borges, Pedro Reimão, Melo Beirão, Maria João Menéres, Carlos Aguiar. Glaucoma em Doentes Portugueses com Polineuropatia Amiloidótica Familiar. *Oftalmologia - Revista da Sociedade Portuguesa de Oftalmologia*. 2011; 35: 311-8
55. Haraoka K, Ando Y, Ando E, Sandgren O, Hirata A, Nakamura M, Terazaki H, Tajiri T, Tanoue Y, Sun X, Okabe H, Tanihara H. Amyloid deposition in ocular tissues of patients with familial amyloidotic polyneuropathy (FAP). *Amyloid*. 2002 Sep; 9(3): 183-9
56. Kojima A, Ohno-Matsui K, Mitsuhashi T, Ichinose S, Nemoto T, Akashi T, Eishi Y, Ikeda S, Hirose A, Mochizuki M. Choroidal vascular lesions identified by ICG angiography in a case of familial amyloidotic polyneuropathy. *Jpn J Ophthalmol*. 2003 Jan-Feb; 47(1): 97-101
57. Schwartz MF, Green WR, Michels RG, Kincaid MC, Fogle J. An unusual case of ocular involvement in primary systemic nonfamilial amyloidosis. *Ophthalmology*. 1982 Apr; 89(4): 394-401
58. Dunlop AA, Graham SL. Familial amyloidotic polyneuropathy presenting with rubeotic glaucoma. *Clin Experiment Ophthalmol*. 2002 Aug; 30(4): 300-2
59. Walter P, Widder RA, Brunner R, Kriegstein GK. Electrophysiologic abnormalities in two cases of familial amyloidosis. *Am J Ophthalmol*. 1995 May; 119(5): 662-3.
60. Zhang AM, Wang H, Sun P, Hu QX, He Y, Yao YG. Mutation p.G83R in the transthyretin gene is associated with hereditary vitreous amyloidosis in Han Chinese families. *Mol Vis*. 2013 Jul 25; 19:1631-8
61. Eagleman DM, Jacobson JE, Sejnowski TJ. Perceived luminance depends on temporal context. *Nature*. 2004 Apr 22; 428(6985): 854-6.
62. Hawken MJ, Blakemore C, Morley JW. Development of contrast sensitivity and temporal-frequency selectivity in primate lateral geniculate nucleus. *Exp Brain Res*. 1997 Mar; 114(1): 86-98
63. Montés-Micó R, Charman WN. Choice of spatial frequency for contrast sensitivity evaluation after corneal refractive surgery. *J Refract Surg*. 2001 Nov-Dec; 17(6): 646-51
64. Ojanpää H, Näsänen R. Utilisation of spatial frequency information in face search. *Vision Res*. 2003 Nov; 43(24): 2505-15.
65. Paulsson LE, Sjöstrand J. Contrast sensitivity in the presence of a glare light. Theoretical concepts and preliminary clinical studies. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1980 Apr; 19(4): 401-6
66. Akin T, Karadayi K, Aykan U, Certel I, Bilge AH. The effects of artificial tear application on contrast sensitivity in dry and normal eyes. *Eur J Ophthalmol*. 2006 Nov-Dec; 16(6): 785-90
67. Rieger G. Contrast sensitivity in patients with keratoconjunctivitis sicca before and after artificial tear application. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 1993 Oct; 231(10): 577-9

68. Rolando M, Iester M, Macrí A, Calabria G. Low spatial-contrast sensitivity in dry eyes. *Cornea*. 1998 Jul; 17(4): 376-9
69. Puell MC, Benítez-del-Castillo JM, Martínez-de-la-Casa J, Sánchez-Ramos C, Vico E, Pérez-Carrasco MJ, Pedraza C, del-Hierro A. Contrast sensitivity and disability glare in patients with dry eye. *Acta Ophthalmol Scand*. 2006 Aug; 84(4): 527-31
70. Huang FC, Tseng SH, Shih MH, Chen FK. Effect of artificial tears on corneal surface regularity, contrast sensitivity, and glare disability in dry eyes. *Ophthalmology*. 2002 Oct; 109(10): 1934-40
71. Mishima S. Some physiological aspects of the precorneal tear film. *Arch Ophthalmol*. 1965 Feb; 73:233-41
72. Pomerance GN, Evans DW. Test-retest reliability of the CSV-1000 contrast test and its relationship to glaucoma therapy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1994 Aug; 35(9): 3357-61
73. Elliott DB, Bullimore MA. Assessing the reliability, discriminative ability, and validity of disability glare tests. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1993 Jan; 34(1): 108-19
74. Reeves BC, Wood JM, Hill AR. Vistech VCTS 6500 charts - within - and between - session reliability. *Optom Vis Sci*. 1991 Sep; 68(9): 728-37
75. Rubin GS. Reliability and sensitivity of clinical contrast sensitivity tests. *Clin Visin Sci*. 1988; 2:169-77
76. Banks MS. The development of visual accommodation during early infancy. *Child Dev*. 1980 Sep; 51(3): 646-66
77. Banks MS. Infant refraction and accommodation. *Int Ophthalmol Clin*. 1980 Spring; 20(1): 205-32.
78. Brookman KE. Ocular accommodation in human infants. *Am J Optom Physiol Opt*. 1983 Feb; 60(2):91-9
79. Moses, RA. Accommodation. In: R.A. Moses, editor. *Adle's Physiology of the Eye. Clinical Application*. St Louis: Mosby 1981: 291-310
80. Patel I, Munoz B, Burke AG, Kayongoya A, McHiwa W, Schwarzwaldner AW, West SK. Impact of presbyopia on quality of life in a rural African setting. *Ophthalmology*. 2006 May; 113(5): 728-34
81. Patel I, West SK. Presbyopia: prevalence, impact, and interventions. *Community Eye Health*. 2007 Sep; 20(63): 40-1
82. Luo BP, Brown GC, Luo SC, Brown MM. The quality of life associated with presbyopia. *Am J Ophthalmol*. 2008 Apr; 145(4): 618-622
83. McDonnell PJ, Lee P, Spritzer K, Lindblad AS, Hays RD. Associations of presbyopia with vision-targeted health-related quality of life. *Arch Ophthalmol*. 2003 Nov; 121(11): 1577-81
84. Tscherning M. Accommodation. *Physiologic Optics*. Philadelphia: The Keystone; 1920
85. Schachar RA. Cause and treatment of presbyopia with a method for increasing the amplitude of accommodation. *Ann Ophthalmol*. 1992 Dec; 24(12): 445-7, 452.
86. Chien CH, Huang T, Schachar RA. A model for crystalline lens accommodation. *Compr Ther*. 2003 Summer-Fall; 29(2-3): 167-75.
87. Coleman DJ. Unified model for accommodative mechanism. *Am J Ophthalmol*. 1970 Jun; 69(6): 1063-79.
88. Coleman DJ. On the hydraulic suspension theory of accommodation. *Trans Am Ophthalmol Soc*. 1986; 84:846-68.

89. Coleman DJ, Fish SK. Presbyopia, accommodation, and the mature catenary. *Ophthalmology*. 2001 Sep; 108(9): 1544-51
90. Waring GO 4th, Berry DE. Advances in the surgical correction of presbyopia. *Int Ophthalmol Clin*. 2013 Winter; 53(1): 129-52
91. Torricelli AA, Junior JB, Santhiago MR, Bechara SJ. Surgical management of presbyopia. *Clin Ophthalmol*. 2012; 6:1459-66
92. von Helmholtz, HH. Mechanism of accommodation. In: Southall, JPC. Editor. Helmholtz's Treatise on Physiological Optics, Translation edited by Southall in 1924, original German in 1909. New York: Dover; 1962
93. Glasser A, Kaufman PL. The mechanism of accommodation in primates. *Ophthalmology*. 1999 May; 106(5): 863-72
94. Vilupuru AS, Glasser A. The relationship between refractive and biometric changes during Edinger-Westphal stimulated accommodation in rhesus monkeys. *Exp Eye Res*. 2005 Mar; 80(3): 349-60
95. Bolz M, Prinz A, Drexler W, Findl O. Linear relationship of refractive and biometric lenticular changes during accommodation in emmetropic and myopic eyes. *Br J Ophthalmol*. 2007 Mar; 91(3): 360-5
96. Ostrin L, Kasthurirangan S, Win-Hall D, Glasser A. Simultaneous measurements of refraction and A-scan biometry during accommodation in humans. *Optom Vis Sci*. 2006 Sep; 83(9): 657-65
97. Dubbelman M, Van der Heijde GL, Weeber HA. Change in shape of the aging human crystalline lens with accommodation. *Vision Res*. 2005 Jan; 45(1): 117-32.
98. Rosales P, Dubbelman M, Marcos S, van der Heijde R. Crystalline lens radii of curvature from Purkinje and Scheimpflug imaging. *J Vis*. 2006 Sep 19; 6(10): 1057-67
99. Glasser A, Campbell MC. Biometric, optical and physical changes in the isolated human crystalline lens with age in relation to presbyopia. *Vision Res*. 1999 Jun; 39(11): 1991-2015
100. Heys KR, Cram SL, Truscott RJ. Massive increase in the stiffness of the human lens nucleus with age: the basis for presbyopia? *Mol Vis*. 2004 Dec 16; 10:956-63
101. Weeber HA, Eckert G, Pechhold W, van der Heijde RG. Stiffness gradient in the crystalline lens. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2007 Sep; 245(9):1357-66
102. Weeber HA, Eckert G, Soergel F, Meyer CH, Pechhold W, van der Heijde RG. Dynamic mechanical properties of human lenses. *Exp Eye Res*. 2005 Mar; 80(3): 425-34
103. Krag S. Biomechanical measurements of the lens capsule. *Acta Ophthalmol Scand*. 1999 Jun; 77(3): 364
104. Krag S, Andreassen TT. Mechanical properties of the human lens capsule. *Prog Retin Eye Res*. 2003 Nov; 22(6): 749-67
105. Krag S, Andreassen TT. Mechanical properties of the human posterior lens capsule. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2003 Feb; 44(2): 691-6
106. McGinty SJ, Truscott RJ. Presbyopia: the first stage of nuclear cataract? *Ophthalmic Res*. 2006; 38(3): 137-48
107. Truscott RJ. Presbyopia. Emerging from a blur towards an understanding of the molecular basis for this most common eye condition. *Exp Eye Res*. 2009 Feb; 88(2): 241-7

108. Truscott RJ, Zhu X. Presbyopia and cataract: a question of heat and time. *Prog Retin Eye Res.* 2010 Nov; 29(6): 487-99
109. Heron G, Charman WN. Accommodation as a function of age and the linearity of the response dynamics. *Vision Res.* 2004 Dec; 44(27): 3119-30
110. Guevara C, Barrientos N, Flores A, Idiáquez J. Familial amyloidotic polyneuropathy type I. *Rev Med Chil.* 2003 Oct; 131(10): 1179-82
111. Carvalho MJ, van Den Meiracker AH, Boomsma F, Lima M, Freitas J, Veld AJ, Falcao De Freitas A. Diurnal blood pressure variation in progressive autonomic failure. *Hypertension.* 2000 Apr; 35(4): 892-7
112. Mallen EA, Gilmartin B, Wolffsohn JS. Sympathetic innervation of ciliary muscle and oculomotor function in emmetropic and myopic young adults. *Vision Res.* 2005 Jun; 45(13): 1641-51
113. Haraoka K, Ando Y, Ando E, Sun X, Nakamura M, Terazaki H, Misumi S, Tanoue Y, Tajiri T, Shoji S, Ishizaki T, Okabe H, Tanihara H. Presence of variant transthyretin in aqueous humor of a patient with familial amyloidotic polyneuropathy after liver transplantation. *Amyloid.* 2002 Dec; 9(4): 247-51
114. Patel I, West S. Gender differences in presbyopia. *Community Eye Health.* 2009 Jun; 22(70): 27
115. Pointer JS. The presbyopic add. II. Age-related trend and a gender difference. *Ophthalmic Physiol Opt.* 1995 Jul; 15(4): 241-8
116. Ray S, Pavithran K, Nair PS. Cranial neuropathy and bone involvement in primary systemic amyloidosis. *J Assoc Physicians India.* 2006 Jul; 54:577-80
117. Mozaffarieh M, Flammer J. Regulation of ocular blood flow. In: Ocular Blood Flow and Glaucomatous Optic Neuropathy, edited by Mozaffarieh M, Flammer J. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2009, 45-54
118. Behrens A, Doyle JJ, Stern L, Chuck RS, McDonnell PJ, Azar DT, Dua HS, Hom M, Karpecki PM, Laibson PR, Lemp MA, Meisler DM, Del Castillo JM, O'Brien TP, Pflugfelder SC, Rolando M, Schein OD, Seitz B, Tseng SC, van Setten G, Wilson SE, Yiu SC; Dysfunctional tear syndrome study group. Dysfunctional tear syndrome: a Delphi approach to treatment recommendations. *Cornea.* 2006 Sep; 25(8): 900-7
119. The definition and classification of dry eye disease: report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop (2007). *Ocul Surf.* 2007 Apr; 5(2): 75-92
120. Seifert P, Spitznas M. Demonstration of nerve fibers in human accessory lacrimal glands. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* (1994) 232: 107-114
121. Ohasi Y, Dogru M, Tsubota K. Laboratory findings in tear fluid analysis. *Clin Chim Acta.* 2006;369:17-28
122. Montes - Mico R. Role of the tear film optical quality of human eye. *J Cataract Refract Surg.* 2007; 33:1631-5
123. Klenkler B, Sheardown H. Growth factors in the anterior segment: role in tissue maintenance, wound healing and ocular pathology. *Exp Eye Res.* 2004; 79:677-88
124. Bjerrum KB. Keratoconjunctivitis sicca and primary Sjögren's syndrome in a Danish population aged 30-60 years. *Acta Ophthalmol Scand.* 1997 Jun; 75(3): 281-6.
125. Schein OD, Muñoz B, Tielsch JM, Bandeen-Roche K, West S. Prevalence of dry eye among the elderly. *Am J Ophthalmol.* 1997 Dec; 124(6): 723-8.
126. Schaumberg DA, Sullivan DA, Buring JE, Dana MR. Prevalence of dry eye syndrome among US women. *Am J Ophthalmol.* 2003 Aug; 136(2): 318-26.

127. Lemp MA. Report of the National Eye Institute/Industry workshop on Clinical Trials in Dry Eyes. *CLAO J.* 1995 Oct; 21 (4): 221-32
128. Miljanović B, Dana R, Sullivan DA, Schaumberg DA. Impact of dry eye syndrome on vision-related quality of life. *Am J Ophthalmol.* 2007 Mar; 143(3): 409-15.
129. Goto E, Matsumoto Y, Kamoi M, Endo K, Ishida R, Dogru M, Kaido M, Kojima T, Tsubota K. Tear evaporation rate in Sjögren syndrome and non-Sjögren dry eye patients. *Am J Ophthalmol.* 2007 Jul; 144(1): 81-85
130. Rasteiro A, Trincao R: Lesões oculares na polineuropatia amiloidótica familiar de tipo português. *Exp Ophthal (Coimbra)* 1979;5:7-8
131. Wong VG, McFarlin DE. Primary familial amyloidosis. *Arch Ophthalmol.* 1967 Aug; 78(2): 208-13
132. Mahood JM. Portuguese-type amyloid neuropathy in an English family. *Postgrad Med J.* 1980 Sep; 56(659): 658-60
133. Laskaratos J, Fronimopoulos J. Familial amyloidosis of the Andrade disease type in a Greek family. *Klin Monbl Augenheilkd.* 1987 May; 190(5): 439-41
134. Okajima T, Nagata J, Hatamoto K, Kinoshita Y, Takaba Y, Tokuomi H. Pharmacological studies of the pupils in familial amyloid polyneuropathy. *Ann Neurol.* 1978 Jul; 4(1): 80-4
135. Inada K, Baba H, Okamura R. Studies of human tear proteins: 4. Analysis by crossed immunoelectrophoresis of tears in various diseases. *Jpn J Ophthalmol.* 1985; 29(2): 212-21
136. Sandgren O, Hofer PA. Conjunctival involvement in familial amyloidotic polyneuropathy. *Acta Ophthalmol (Copenh).* 1990 Jun; 68(3): 292-6
137. Sousa MM, Cardoso I, Fernandes R, Guimarães A, Saraiva MJ. Deposition of transthyretin in early stages of familial amyloidotic polyneuropathy: evidence for toxicity of nonfibrillar aggregates. *Am J Pathol.* 2001 Dec;159(6):1993-2000.
138. Bucciantini M, Calloni G, Chiti F, Formigli L, Nosi D, Dobson CM, Stefani M. Prefibrillar amyloid protein aggregates share common features of cytotoxicity. *J Biol Chem.* 2004 Jul 23;279(30):31374-82.
139. Gumus K, Cavanagh DH. The role of inflammation and antiinflammation therapies in keratoconjunctivitis sicca. *Clin Ophthalmol.* 2009;3:57-67
140. The epidemiology of dry eye disease: report of the Epidemiology Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop (2007). *Ocul Surf.* 2007; 5:93-107
141. Miljanović B, Trivedi KA, Dana MR, Gilbard JP, Buring JE, Schaumberg DA. Relation between dietary ω -3 and ω -6 fatty acids and clinically diagnosed dry eye syndrome in women. *Am J Clin Nutr.* 2005 Oct;82(4):887-93.
142. American Academy of Ophthalmology. Preferred practice pattern: dry eye syndrome. http://aao.org/education/guidelines/ppp/upload/Dry_Eye_Syndrome-2.pdf
143. Moss SE, Klein R, Klein BE. Incidence of dry eye in an older population. *Arch Ophthalmol.* 2004 Mar;122(3):369-73.
144. Strempel I, Grüber A, Bittner K. The dry eye in kidney transplants patients. *Klin Monbl Augenheilkd.* 1989 Sep; 195(3): 141-4
145. Management and therapy of dry eye disease: report of the Management and Therapy Subcommittee of the International Dry Eye Workshop (2007). *Ocul Surf.* 2007; 5:163-178

146. Lemp MA. Management of dry eye disease. *Am J Manag Care*. 2008 Apr; 14(3 Suppl): S88-101.
147. Kim TH, Kang JW, Kim KH, Kang KW, Shin MS, Jung SY, Kim AR, Jung HJ, Lee SD, Choi JB, Choi SM. Acupuncture for dry eye: a multicentre randomised controlled trial with active comparison intervention (artificial tear drop) using a mixed method approach protocol. *Trials*. 2010 Nov 16; 11:107
148. Asbell PA. Increasing importance of dry eye syndrome and the ideal artificial tear: consensus views from a roundtable discussion. *Curr Med Res Opin*. 2006 Nov; 22(11): 2149-57.
149. Noble BA, Loh RS, MacLennan S, Pesudovs K, Reynolds A, Bridges LR, Burr J, Stewart O, Quereshi S. Comparison of autologous serum eye drops with conventional therapy in a randomised controlled crossover trial for ocular surface disease. *Br J Ophthalmol*. 2004 May; 88(5):647-52.
150. Tananuvat N, Daniell M, Sullivan LJ, Yi Q, McKelvie P, McCarty DJ, Taylor HR. Controlled study of the use of autologous serum in dry eye patients. *Cornea*. 2001 Nov; 20(8): 802-6.
151. Kojima T, Ishida R, Dogru M, Goto E, Matsumoto Y, Kaido M, Tsubota K. The effect of autologous serum eyedrops in the treatment of severe dry eye disease: a prospective randomized case-control study. *Am J Ophthalmol*. 2005 Feb; 139(2): 242-6.
152. Noda-Tsuruya T, Asano-Kato N, Toda I, Tsubota K. Autologous serum eye drops for dry eye after LASIK. *J Refract Surg*. 2006 Jan-Feb; 22(1): 61-6.
153. Geerling G, MacLennan S, Hartwig D. Autologous serum eye drops for ocular surface disorders. *Br J Ophthalmol*. 2004 Nov; 88(11): 1467-74.
154. Taban M, Chen B, Perry JD. Update on punctal plugs. *Compr Ophthalmol Update*. 2006 Sep-Oct; 7(5): 205-12; discussion 213-4.
155. Lindsay RG. Therapeutic use of silicone hydrogel lenses for the management of dry eye. *In The Practice*; Marc 2007.
156. Diller R, Sant S. A case report and review of filamentary keratitis. *Optometry*. 2005 Jan; 76(1): 30-6.
157. Albietz J, Sanfilippo P, Troutbeck R, Lenton LM. Management of filamentary keratitis associated with aqueous-deficient dry eye. *Optom Vis Sci*. 2003 Jun; 80(6): 420-30.
158. American Optometric Association. Optometric clinical practice guideline: care of the patient with ocular surface disorders. 2002
159. Cosar CB, Cohen EJ, Rapuano CJ, Maus M, Penne RP, Flanagan JC, Laibson PR. Tarsorrhaphy: clinical experience from a cornea practice. *Cornea*. 2001 Nov; 20(8): 787-91.
160. Salagen (pilocarpine) product information. Setembro 2003
161. Evoxac (cevimelina) product information. Abril 2005
162. Nelson JD, Friedlaender M, Yeatts RP, Yee R, McDermott M, Orlin S, Gallagher SC, Shrotriya RC. Oral pilocarpine for symptomatic relief of keratoconjunctivitis sicca in patients with Sjögren's syndrome. The MGI PHARMA Sjögren's Syndrome Study Group. *Adv Exp Med Biol*. 1998; 438:979-83.
163. Papas AS, Fernandez MM, Castano RA, Gallagher SC, Trivedi M, Shrotriya RC. Oral pilocarpine for symptomatic relief of dry mouth and dry eyes in patients with Sjögren's syndrome. *Adv Exp Med Biol*. 1998; 438:973-8.
164. Vivino FB, Al-Hashimi I, Khan Z, LeVeque FG, Salisbury PL 3rd, Tran-Johnson TK, Muscoplat CC, Trivedi M, Goldlust B, Gallagher SC. Pilocarpine tablets for the treatment of dry mouth and dry eye symptoms in patients with

- Sjögren syndrome: a randomized, placebo-controlled, fixed-dose, multicenter trial. P92-01 Study Group. *Arch Intern Med*. 1999 Jan 25; 159(2): 174-81.
165. Pinna A, Piccinini P, Carta F. Effect of oral linoleic and gamma-linolenic acid on meibomian gland dysfunction. *Cornea*. 2007 Apr; 26(3): 260-4.
166. TheraTears Nutrition. Advanced Vision Research. 2008
167. BioTears Nutrition. Advanced Vision Research. 2008
168. Stevenson D, Tauber J, Reis BL. Efficacy and safety of cyclosporin A ophthalmic emulsion in the treatment of moderate-to-severe dry eye disease: a dose-ranging, randomized trial. The Cyclosporin A Phase 2 Study Group. *Ophthalmology*. 2000 May; 107(5): 967-74
169. Sall K, Stevenson OD, Mundorf TK, Reis BL. Two multicenter, randomized studies of the efficacy and safety of cyclosporine ophthalmic emulsion in moderate to severe dry eye disease. CsA Phase 3 Study Group. *Ophthalmology*. 2000 Apr; 107(4): 631-9.
170. Roberts CW, Carniglia PE, Brazzo BG. Comparison of topical cyclosporine, punctal occlusion, and a combination for the treatment of dry eye. *Cornea*. 2007 Aug; 26(7): 805-9.
171. Brown MM, Brown GC, Brown HC, Peet J, Roth Z. Value-based medicine, comparative effectiveness, and cost-effectiveness analysis of topical cyclosporine for the treatment of dry eye syndrome. *Arch Ophthalmol*. 2009 Feb; 127(2): 146-52.
172. Perry HD, Donnenfeld ED, Kanellopoulos AJ, Grossman GA. Topical cyclosporin A in the management of postkeratoplasty glaucoma. *Cornea*. 1997 May; 16(3): 284-8.
173. Nussenblatt RB, Palestine AG. Cyclosporine: immunology, pharmacology and therapeutic uses. *Surv Ophthalmol*. 1986 Nov-Dec; 31(3): 159-69.
174. Belin MW, Bouchard CS, Frantz S, Chmielinska J. Topical cyclosporine in high-risk corneal transplants. *Ophthalmology*. 1989 Aug; 96(8): 1144-50.
175. Ogawa Y, Okamoto S, Kuwana M, Mori T, Watanabe R, Nakajima T, Yamada M, Mashima Y, Tsubota K, Oguchi Y. Successful treatment of dry eye in two patients with chronic graft-versus-host disease with systemic administration of FK506 and corticosteroids. *Cornea*. 2001 May; 20(4): 430-4.
176. Fox RI. Sjogren's syndrome: evolving therapies. *Expert Opin Investig Drugs*. 2003 Feb; 12(2): 247-54.
177. Salib GM, McDonald MB, Smolek M. Safety and efficacy of cyclosporine 0.05% drops versus unpreserved artificial tears in dry-eye patients having laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg*. 2006 May; 32(5): 772-8.
178. Rubin M, Rao SN. Efficacy of topical cyclosporin 0.05% in the treatment of posterior blepharitis. *J Ocul Pharmacol Ther*. 2006 Feb; 22(1): 47-53.
179. Donnenfeld E, Pflugfelder SC. Topical ophthalmic cyclosporine: pharmacology and clinical uses. *Surv Ophthalmol*. 2009 May-Jun; 54(3): 321-38.
180. Kawaji T, Ando Y, Ando E, Nakamura M, Hirata A, Tanihara H. A case of vitreous amyloidosis without systemic symptoms in familial amyloidotic polyneuropathy. *Amyloid*. 2004 Dec; 11(4): 257-9
181. Thiel H-J, Linke RP: Hereditäre Glaskörper – *Amyloidose, Klinische, morphologische und biochemische Befunde Ber Dtsch Ophthal Gesellsch* 1977; 74:581-585
182. Irvine AR, Char DH. Recurrent amyloid involvement in the vitreous body after vitrectomy. *Am J Ophthalmol*. 1976 Nov; 82(5): 705-8

183. Trepsat C, Hullo A, Durand L, Bouvier R. Vitreous amyloidosis. Apropos of 2 cases with an ultrastructure study. *Bull Soc Ophthalmol Fr.* 1984 Jun-Jul; 84(6-7): 853-6.
184. Petin D, Kantelip B, Bacin F, Rouleau J. A case of vitreous amyloidosis. *Bull Soc Ophthalmol Fr.* 1988 May; 88(5): 663-7
185. Gorevic PD, Rodrigues MM, Spencer WH, Munoz PC, Allen AW Jr, Verne AZ. Prealbumin. A major constituent of vitreous amyloid. *Ophthalmology.* 1987 Jul; 94(7): 792-8
186. Mieler WF, Williams DF, Levin M. Vitreous amyloidosis. Case report. *Arch Ophthalmol.* 1988 Jul; 106(7): 881-3
187. Vallat M, Vallat JM, Leboutet MJ, Detre J, Rigaud M, Robin A. Idiopathic amyloidosis of the vitreous. A propos of 2 case reports. *Bull Mem Soc Fr Ophthalmol.* 1982; 94:412-5
188. Pirazzoli G, Scolozzi, R, De Palma P, Natali M.C. Primary amyloidosis of the vitreous. *Ann Ottalmol Clin Ocul*, vol. 109, 1983, p.463-470
189. Machemer R. A new concept for vitreous surgery. Surgical technique and complications. *Am J Ophthalmol.* 1972 Dec; 74(6): 1022-33
190. Miyahara T, Ohta K, Yamamoto Y, Ueno A, Murata T. 25-gauge vitrectomy to treat ocular complications of familial amyloid polyneuropathy. *J Glaucoma.* 2007 Jan; 16(1): 169-70
191. Doft BH, Machemer R, Skinner M, Buettner H, Clarkson J, Crock J, McLeod D, Michels R, Scott J, Wilson D. Pars plana vitrectomy for vitreous amyloidosis. *Ophthalmology.* 1987 Jun; 94(6): 607-11
192. Knapp CM, Sarodia U, Brown L, Bibby K. Primary nonfamilial ocular amyloidosis. *Eye (Lond).* 2003 Mar; 17(2): 252-4
193. Misumi Y, Ando Y, Ueda M, Obayashi K, Jono H, Su Y, Yamashita T, Uchino M. Chain reaction of amyloid fibril formation with induction of basement membrane in familial amyloidotic polyneuropathy. *J Pathol.* 2009 Dec; 219(4): 481-90
194. Kawaji T, Ando Y, Nakamura M, Yamashita T, Wakita M, Ando E, Hirata A, Tanihara H. Ocular amyloid angiopathy associated with familial amyloidotic polyneuropathy caused by amyloidogenic transthyretin Y114C. *Ophthalmology.* 2005 Dec; 112(12): 221-2
195. Yu AL, Brummeisl W, Schaumberger M, Kampik A, Welge-Lussen U. Vitrectomy does not increase the risk of open-angle glaucoma or ocular hypertension - a 5-year follow-up. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2010; 248:1407-1414
196. Chang S, Smith SD. Comment Re: Yu AL, Brummeisl W, Schaumberger M, Kampik A, Welge-Lussen U. Vitrectomy does not increase the risk of open-angle glaucoma or ocular hypertension - a 5-year follow-up. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2010; 248:1407-1414. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2012 Mar; 250(3): 461-2
197. Chang S. LXII Edward Jackson lecture: open angle glaucoma after vitrectomy. *Am J Ophthalmol.* 2006 Jun; 141(6): 1033-1043
198. Tezel G. The immune response in glaucoma: a perspective on the roles of oxidative stress. *Exp Eye Res.* 2011 Aug; 93(2): 178-86
199. Oshida E, Matsumoto Y, Arai K. Free radicals in the aqueous humor of patients with glaucoma. *Clin Ophthalmol.* 2010 Jul 30; 4:653-60

200. Tezel G, Yang X, Luo C, Kain AD, Powell DW, Kuehn MH, Kaplan HJ. Oxidative stress and the regulation of complement activation in human glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010 Oct; 51(10): 5071-82
201. Ghanem AA, Arafa LF, El-Baz A. Oxidative stress markers in patients with primary open-angle glaucoma. *Curr Eye Res*. 2010 Apr; 35(4): 295-301
202. Yuki K, Murat D, Kimura I, Ohtake Y, Tsubota K. Reduced-serum vitamin C and increased uric acid levels in normal-tension glaucoma. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2010 Feb; 248(2): 243-8
203. Ferreira SM, Lerner SF, Brunzini R, Evelson PA, Llesuy SF. Oxidative stress markers in aqueous humor of glaucoma patients. *Am J Ophthalmol*. 2004 Jan; 137(1): 62-9
204. Hlekamp NM. The vitreous gel: more than meets the eye. *Am J Ophthalmol*. 2010 Jan; 149(1):32-6
205. Macedo B, Magalhães J, Batista AR, Saraiva MJ. Carvedilol treatment reduces transthyretin deposition in a familial amyloidotic polyneuropathy mouse model. *Pharmacol Res*. 2010 Dec; 62(6):514-22
206. Macedo B, Batista AR, do Amaral JB, Saraiva MJ. Biomarkers in the assessment of therapies for familial amyloidotic polyneuropathy. *Mol Med*. 2007 Nov-Dec; 13(11-12):584-91
207. Teixeira PF, Cerca F, Santos SD, Saraiva MJ. Endoplasmic reticulum stress associated with extracellular aggregates. Evidence from transthyretin deposition in familial amyloid polyneuropathy. *J Biol Chem*. 2006 Aug 4; 281(31): 21998-22003
208. Saraiva MJ. Cellular consequences of transthyretin deposition. *Amyloid*. 2003 Aug; 10 Suppl 1:13-6
209. Fiszman ML, Di Egidio M, Ricart KC, Repetto MG, Borodinsky LN, Llesuy SF, Saizar RD, Trigo PL, Riedstra S, Costa PP, Villa AM, Katz N, Lendoire JC, Sica RE. Evidence of oxidative stress in familial amyloidotic polyneuropathy type 1. *Arch Neurol*. 2003 Apr; 60(4): 593-7
210. Grus FH, Joachim SC, Sandmann S, Thiel U, Bruns K, Lackner KJ, Pfeiffer N. Transthyretin and complex protein pattern in aqueous humor of patients with primary open-angle glaucoma. *Mol Vis*. 2008 Aug 4; 14:1437-45
211. Bouhenni RA, Al Shahwan S, Morales J, Wakim BT, Chomyk AM, Alkuraya FS, Edward DP. Identification of differentially expressed proteins in the aqueous humor of primary congenital glaucoma. *Exp Eye Res*. 2011 Jan; 92(1):67-75
212. Quintas A, Saraiva MJM, Brito RMM. The tetrameric protein transthyretin dissociates to a non-native monomer in solution—a novel model for amyloidogenesis. *J Biol Chem* 1999; 274: 32943–32949.
213. Merlini G, Bellotti V. Molecular mechanisms of amyloidosis. *N Engl J Med* 2003; 349:583–596.
214. Silva-Araújo AC, Tavares MA, Cotta JS, Castro-Correia JF. Aqueous outflow system in familial amyloidotic polyneuropathy, Portuguese type. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 1993 Mar; 231(3): 131-5
215. Brown CM, Dütsch M, Michelson G, Neundörfer B, Hilz MJ. Impaired cardiovascular responses to baroreflex stimulation in open-angle and normal-pressure glaucoma. *Clin Sci (Lond)*. 2002 Jun; 102(6): 623-30
216. Clark CV, Mapstone R. Diurnal variation in onset of acute closed angle glaucoma. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1986 Apr 26; 292(6528): 1106

217. Kumar R, Ahuja VM. A study of changes in the status of autonomic nervous system in primary open angle glaucoma cases. *Indian J Med Sci.* 1999 Dec;53(12):529-34
218. Riccadonna M, Covi G, Pancera P, Presciuttini B, Babighian S, Perfetti S, Bonomi L, Lechi A. Autonomic system activity and 24-hour blood pressure variations in subjects with normal- and high-tension glaucoma. *J Glaucoma.* 2003 Apr; 12(2): 156-63
219. Reiss GR, Lee DA, Topper JE, Brubaker RF. Aqueous humor flow during sleep. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1984 Jun; 25(6): 776-8
220. Planté-Bordeneuve V, Ferreira A, Lalu T, Zaros C, Lacroix C, Adams D, Said G. Diagnostic pitfalls in sporadic transthyretin familial amyloid polyneuropathy (TTR-FAP). *Neurology.* 2007 Aug 14;69(7):693-8
221. Coutinho CA, Conceição I, Almeida A, Cantinho G, Sargento L, Vagueiro MC. Early detection of sympathetic myocardial denervation in patients with familial amyloid polyneuropathy type I. *Rev Port Cardiol.* 2004 Feb; 23(2): 201-11
222. Davies DR, Smith SE. Pupil abnormality in amyloidosis with autonomic neuropathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1999 Dec;67(6):819-22
223. Hamann S, Jensen PK, Fledelius HC. Bilateral optic neuropathy in a patient with familial amyloidotic polyneuropathy. *BMJ Case Rep.* 2013 Sep 7; 2013.
224. Pandit A, Gangurde S, Gupta SB. Autonomic failure in primary amyloidosis. *J Assoc Physicians India.* 2008 Dec; 56:995-6.
225. Ando Y, Suhr OB. Autonomic dysfunction in familial amyloidotic polyneuropathy (FAP). *Amyloid.* 1998 Dec; 5(4): 288-300
226. Gherghel D, Hosking SL, Orgül S. Autonomic nervous system, circadian rhythms, and primary open-angle glaucoma. *Surv Ophthalmol.* 2004 Sep-Oct; 49(5): 491-508
227. Mann S, Altman DG, Raftery EB, Bannister R. Circadian variation of blood pressure in autonomic failure. *Circulation.* 1983 Sep; 68(3): 477-83
228. Maul EA, Friedman DS, Chang DS, Boland MV, Ramulu PY, Jampel HD, Quigley HA. Choroidal thickness measured by spectral domain optical coherence tomography: factors affecting thickness in glaucoma patients. *Ophthalmology.* 2011 Aug;118(8):1571-9
229. Kass MA, Heuer DK, Higginbotham EJ, Johnson CA, Keltner JL, Miller JP, Parrish RK 2nd, Wilson MR, Gordon MO. The Ocular Hypertension Treatment Study: a randomized trial determines that topical ocular hypotensive medication delays or prevents the onset of primary open-angle glaucoma. *Arch Ophthalmol.* 2002 Jun; 120(6): 701-13
230. Janz NK, Wren PA, Lichter PR, Musch DC, Gillespie BW, Guire KE, Mills RP; CIGTS Study Group. The Collaborative Initial Glaucoma Treatment Study: interim quality of life findings after initial medical or surgical treatment of glaucoma. *Ophthalmology.* 2001 Nov; 108(11): 1954-65
231. Musch DC, Gillespie BW, Lichter PR, Niziol LM, Janz NK; CIGTS Study Investigators. Visual field progression in the Collaborative Initial Glaucoma Treatment Study the impact of treatment and other baseline factors. *Ophthalmology.* 2009 Feb; 116(2): 200-7
232. Leske MC, Heijl A, Hussein M, Bengtsson B, Hyman L, Komaroff E; Early Manifest Glaucoma Trial Group. Factors for glaucoma progression and the effect of treatment: the early manifest glaucoma trial. *Arch Ophthalmol.* 2003 Jan; 121(1): 48-56

233. Chang EE, Goldberg JL. Glaucoma 2.0: neuroprotection, neuroregeneration, neuroenhancement. *Ophthalmology*. 2012 May; 119(5): 979-86
234. Labetoulle M, Frau E, Le Jeunne C. Systemic adverse effects of topical ocular treatments. *Presse Med*. 2005 Apr 23; 34(8): 589-95
235. Kawaji T, Ando Y, Hara R, Tanihara H. Novel therapy for transthyretin-related ocular amyloidosis: a pilot study of retinal laser photocoagulation. *Ophthalmology*. 2010 Mar;117(3):552-5
236. Weinreb RN. Glaucoma neuroprotection: What is it? Why is it needed? *Can J Ophthalmol*. 2007 Jun; 42(3): 396-8
237. Osborne NN. Recent clinical findings with memantine should not mean that the idea of neuroprotection in glaucoma is abandoned. *Acta Ophthalmol*. 2009 Jun; 87(4): 450-4
238. Chen SD, Wang L, Zhang XL. Neuroprotection in glaucoma: present and future. *Chin Med J (Engl)*. 2013; 126(8): 1567-77
239. Wierzbowska J, Robaszkiewicz J, Figurska M, Stankiewicz A. Future possibilities in glaucoma therapy. *Med Sci Monit*. 2010 Nov; 16(11): 252-9
240. Baltmr A, Duggan J, Nizari S, Salt TE, Cordeiro MF. Neuroprotection in glaucoma - Is there a future role? *Exp Eye Res*. 2010 Nov; 91(5):554-66
241. Neuroprotection for treatment of glaucoma in adults. Sena DF, Lindsley K. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013 Feb 28; 2:CD006539.
242. Chrysostomou V, Rezania F, Trounce IA, Crowston JG. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in glaucoma. *Curr Opin Pharmacol*. 2013 Feb; 13(1): 12-5
243. Chua B, Goldberg I. Neuroprotective Agents in Glaucoma Therapy: Recent developments and future directions. *Expert Rev Ophthalmol*. 2010; 5(5): 627-36
244. Lambiase A, Aloe L, Centofanti M, Parisi V, Mantelli F, Colafrancesco V, Manni GL, Bucci MG, Bonini S, Levi-Montalcini R. Experimental and clinical evidence of neuroprotection by nerve growth factor eye drops: Implications for glaucoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Aug 3
245. Fu QL, Wu W, Wang H, Li X, Lee VW, So KF. Up-regulated endogenous erythropoietin/erythropoietin receptor system and exogenous erythropoietin rescue retinal ganglion cells after chronic ocular hypertension. *Cell Mol Neurobiol*. 2008 Feb; 28(2): 317-29
246. Jelkmann W. Erythropoietin: structure, control of production, and function. *Physiol Rev*. 1992 Apr; 72(2): 449-89
247. Brines M, Cerami A. Emerging biological roles for erythropoietin in the nervous system. *Nat Rev Neurosci*. 2005 Jun; 6(6): 484-94
248. Brines M, Cerami A. Discovering erythropoietin's extra-hematopoietic functions: biology and clinical promise. *Kidney Int*. 2006 Jul; 70(2): 246-50
249. Anagnostou A, Lee ES, Kessimian N, Levinson R, Steiner M. Erythropoietin has a mitogenic and positive chemotactic effect on endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1990 Aug;87(15):5978-82
250. Digicaylioglu M, Bichet S, Marti HH, Wenger RH, Rivas LA, Bauer C, Gassmann M. Localization of specific erythropoietin binding sites in defined areas of the mouse brain. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995 Apr 25; 92(9): 3717-20
251. Marti HH, Wenger RH, Rivas LA, Straumann U, Digicaylioglu M, Henn V, Yonekawa Y, Bauer C, Gassmann M. Erythropoietin gene expression in human, monkey and murine brain. *Eur J Neurosci*. 1996 Apr;8(4):666-76

252. Masuda S, Okano M, Yamagishi K, Nagao M, Ueda M, Sasaki R. A novel site of erythropoietin production. Oxygen-dependent production in cultured rat astrocytes. *J Biol Chem*. 1994 Jul 29;269(30):19488-93
253. Ogilvie M, Yu X, Nicolas-Metral V, Pulido SM, Liu C, Ruegg UT, Noguchi CT. Erythropoietin stimulates proliferation and interferes with differentiation of myoblasts. *J Biol Chem*. 2000 Dec 15; 275(50): 39754-61
254. Sirén AL, Knerlich F, Poser W, Gleiter CH, Brück W, Ehrenreich H. Erythropoietin and erythropoietin receptor in human ischemic/hypoxic brain. *Acta Neuropathol*. 2001 Mar; 101(3): 271-6
255. Genc S, Koroglu TF, Genc K. Erythropoietin as a novel neuroprotectant. *Restor Neurol Neurosci*. 2004; 22(2): 105-19
256. Grasso G, Sfacteria A, Cerami A, Brines M. Erythropoietin as a tissue-protective cytokine in brain injury: what do we know and where do we go? *Neuroscientist*. 2004 Apr; 10(2): 93-8
257. Brines ML, Ghezzi P, Keenan S, Agnello D, de Lanerolle NC, Cerami C, Itri LM, Cerami A. Erythropoietin crosses the blood-brain barrier to protect against experimental brain injury. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000 Sep 12;97(19):10526-31
258. Grimm C, Wenzel A, Groszer M, Mayser H, Seeliger M, Samardzija M, Bauer C, Gassmann M, Remé CE. HIF-1-induced erythropoietin in the hypoxic retina protects against light-induced retinal degeneration. *Nat Med*. 2002 Jul;8(7):718-24
259. Xenocostas A, Cheung WK, Farrell F, Zakszewski C, Kelley M, Lutynski A, Crump M, Lipton JH, Kiss TL, Lau CY, Messner HA. The pharmacokinetics of erythropoietin in the cerebrospinal fluid after intravenous administration of recombinant human erythropoietin. *Eur J Clin Pharmacol*. 2005 May; 61(3): 189-95
260. Banks WA, Jumbe NL, Farrell CL, Niehoff ML, Heatherington AC. Passage of erythropoietic agents across the blood-brain barrier: a comparison of human and murine erythropoietin and the analog darbepoetin alfa. *Eur J Pharmacol*. 2004 Nov 28;505(1-3):93-101.
261. Junk AK, Mammis A, Savitz SI, Singh M, Roth S, Malhotra S, Rosenbaum PS, Cerami A, Brines M, Rosenbaum DM. Erythropoietin administration protects retinal neurons from acute ischemia-reperfusion injury. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002 Aug 6; 99(16): 10659-64
262. Weishaupt JH, Rohde G, Pölking E, Siren AL, Ehrenreich H, Bähr M. Effect of erythropoietin axotomy-induced apoptosis in rat retinal ganglion cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2004 May; 45(5): 1514-22.
263. Kilic U, Kilic E, Soliz J, Bassetti CI, Gassmann M, Hermann DM. Erythropoietin protects from axotomy-induced degeneration of retinal ganglion cells by activating ERK-1/-2. *FASEB J*. 2005 Feb; 19(2): 249-51
264. Tsai JC, Wu L, Worgul B, Forbes M, Cao J. Intravitreal administration of erythropoietin and preservation of retinal ganglion cells in an experimental rat model of glaucoma. *Curr Eye Res*. 2005 Nov; 30(11): 1025-31
265. Buckner FS, Eschbach JW, Haley NR, Davidson RC, Adamson JW. Hypertension following erythropoietin therapy in anemic hemodialysis patients. *Am J Hypertens*. 1990 Dec; 3(12 Pt 1): 947-55.
266. Lim VS. Recombinant human erythropoietin in predialysis patients. *Am J Kidney Dis*. 1991 Oct; 18(4 Suppl 1): 34-7

267. Nowicki M. Erythropoietin and hypertension. *J Hum Hypertens*. 1995 Feb; 9(2): 81-8
268. Varet B, Casadevall N, Lacombe C, Nayeaux P. Erythropoietin: physiology and clinical experience. *Semin Hematol*. 1990 Jul; 27(3 Suppl 3): 25-31
269. Dai C, Chung IJ, Krantz SB. Increased erythropoiesis in polycythemia vera is associated with increased erythroid progenitor proliferation and increased phosphorylation of Akt/PKB. *Exp Hematol*. 2005 Feb;33(2):152-8.
270. Ando M, Iwata A, Ozeki Y, Tsuchiya K, Akiba T, Nihei H. Circulating platelet-derived microparticles with procoagulant activity may be a potential cause of thrombosis in uremic patients. *Kidney Int*. 2002 Nov;62(5):1757-63
271. Stohlawetz PJ, Dzirlo L, Hergovich N, Lackner E, Mensik C, Eichler HG, Kabrna E, Geissler K, Jilma B. Effects of erythropoietin on platelet reactivity and thrombopoiesis in humans. *Blood*. 2000 May 1; 95(9): 2983-9
272. Watanabe D, Suzuma K, Matsui S, Kurimoto M, Kiryu J, Kita M, Suzuma I, Ohashi H, Ojima T, Murakami T, Kobayashi T, Masuda S, Nagao M, Yoshimura N, Takagi H. Erythropoietin as a retinal angiogenic factor in proliferative diabetic retinopathy. *N Engl J Med*. 2005 Aug 25; 353(8): 782-92
273. Brines M, Grasso G, Fiordaliso F, Sfacteria A, Ghezzi P, Fratelli M, Latini R, Xie QW, Smart J, Su-Rick CJ, Pobre E, Diaz D, Gomez D, Hand C, Coleman T, Cerami A. Erythropoietin mediates tissue protection through an erythropoietin and common beta-subunit heteroreceptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004 Oct 12; 101(41): 14907-12
274. Leist M, Ghezzi P, Grasso G, Bianchi R, Villa P, Fratelli M, Savino C, Bianchi M, Nielsen J, Gerwien J, Kallunki P, Larsen AK, Helboe L, Christensen S, Pedersen LO, Nielsen M, Torup L, Sager T, Sfacteria A, Erbayraktar S, Erbayraktar Z, Gokmen N, Yilmaz O, Cerami-Hand C, Xie QW, Coleman T, Cerami A, Brines M. Derivatives of erythropoietin that are tissue protective but not erythropoietic. *Science*. 2004 Jul 9;305(5681):239-42
275. Coleman TR, Westenfelder C, Tögel FE, Yang Y, Hu Z, Swenson L, Leuvenink HG, Ploeg RJ, d'Uscio LV, Katusic ZS, Ghezzi P, Zanetti A, Kaushansky K, Fox NE, Cerami A, Brines M. Cytoprotective doses of erythropoietin or carbamylated erythropoietin have markedly different procoagulant and vasoactive activities. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 Apr 11;103(15):5965-70
276. Erbayraktar S, Grasso G, Sfacteria A, Xie QW, Coleman T, Kreilgaard M, Torup L, Sager T, Erbayraktar Z, Gokmen N, Yilmaz O, Ghezzi P, Villa P, Fratelli M, Casagrande S, Leist M, Helboe L, Gerwein J, Christensen S, Geist MA, Pedersen LØ, Cerami-Hand C, Wuerth JP, Cerami A, Brines M. Asialoerythropoietin is a nonerythropoietic cytokine with broad neuroprotective activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003 May 27; 100(11): 6741-6
277. Tsai JC, Hwang DH, Wu L, et al. Retinal function assessment following intravitreal injection of erythropoietin in rats: a dose-toxicity study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006; 47:E-abstact 5724
278. King CE, Rodger J, Bartlett C, Esmaili T, Dunlop SA, Beazley LD. Erythropoietin is both neuroprotective and neuroregenerative following optic nerve transection. *Exp Neurol*. 2007 May; 205(1): 48-55
279. Fu QL, Wu W, Wang H, Li X, Lee VW, So KF. Up-regulated endogenous erythropoietin/erythropoietin receptor system and exogenous erythropoietin rescue retinal ganglion cells after chronic ocular hypertension. *Cell Mol Neurobiol*. 2008 Feb; 28(2): 317-29

280. Nassiri N, Nassiri N, Majdi M, Mehrjardi HZ, Shakiba Y, Haghnegahdar M, Heidari AB, Djalilian AR, Mirahmadian M. Erythropoietin levels in aqueous humor of patients with glaucoma. *Mol Vis*. 2012; 18:1991-5
281. Wang ZY, Zhao KK, Zhao PQ. Erythropoietin is increased in aqueous humor of glaucomatous eyes. *Curr Eye Res*. 2010 Aug; 35(8): 680-4
282. Mokbel TH, Ghanem AA, Kishk H, Arafa LF, El-Baiomy AA. Erythropoietin and soluble CD44 levels in patients with primary open-angle glaucoma. *Clin Experiment Ophthalmol*. 2010 Aug; 38(6): 560-5
283. Cumurcu T, Bulut Y, Demir HD, Yenisehirli G. Aqueous humor erythropoietin levels in patients with primary open-angle glaucoma. *J Glaucoma*. 2007 Dec;16(8):645-8
284. Prata TS, Navajas EV, Melo LA Jr, Martins JR, Nader HB, Belfort R Jr. Aqueous humor protein concentration in patients with primary open-angle glaucoma under clinical treatment. *Arq Bras Oftalmol*. 2007 Mar-Apr;70(2):217-20.
285. Beirão I, Lobato L, Costa PM, Fonseca I, Mendes P, Silva M, Bravo F, Cabrita A, Porto G. Kidney and anemia in familial amyloidosis type I. *Kidney Int*. 2004 Nov; 66(5): 2004-9
286. Sousa MM, Saraiva MJ. Neurodegeneration in familial amyloid polyneuropathy: from pathology to molecular signaling. *Prog Neurobiol* 2003 Dec; 71(5):385-400.
287. Sousa MM, Cardoso I, Fernandes R, Guimarães A, Saraiva MJ. Deposition of transthyretin in early stages of familial amyloidotic polyneuropathy: evidence for toxicity of nonfibrillar aggregates. *Am J Pathol*. 2001; 159(6): 1993-2000.
288. Fiszman ML, Di Egidio M, Ricart KC, Repetto MG, Borodinsky LN, Llesuy SF, Saizar RD, Trigo PL, Riedstra S, Costa PP, Villa AM, Katz N, Lendoire JC, Sica RE. Evidence of oxidative stress in familial amyloidotic polyneuropathy type 1. *Arch Neurol*. 2003; 60(4): 593-597.
289. Sousa MM, Du Yan S, Fernandes R, Guimaraes A, Stern D, Saraiva MJ. Familial amyloid polyneuropathy: receptor for advanced glycation end products-dependent triggering of neuronal inflammatory and apoptotic pathways. *J Neurosci*. 2001; 21(19): 7576-7586.
290. Sousa MM, Yan SD, Stern D, Saraiva MJ. Interaction of the receptor for advanced glycation end products (RAGE) with transthyretin triggers nuclear transcription factor kB (NF-kB) activation. *Lab Invest*. 2000; 80(7): 1101-1110.
291. Monteiro FA, Sousa MM, Cardoso I, do Amaral JB, Guimarães A, Saraiva MJ. Activation of ERK1/2 MAP kinases in familial amyloidotic polyneuropathy. *J Neurochem*. 2006; 97(1): 151-161.
292. Imagawa S, Yamamoto M, Miura Y. Negative regulation of the erythropoietin gene expression by the GATA transcription factors. *Blood*. 1997;89(4):1430-9.
293. Wang GL, Semenza GL. General involvement of hypoxia-inducible factor 1 in transcriptional response to hypoxia. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1993; 90(9): 4304-4308.
294. La Ferla K, Reimann C, Jelkmann W, Hellwig-Bürgel T. Inhibition of erythropoietin gene expression signaling involves the transcription factors GATA-2 and NF-kappaB. *FASEB J*. 2002; 16(13): 1811-1813.

295. Vinters HV, Gilbert JJ. Cerebral amyloid angiopathy: incidence and complications in the aging brain. II. The distribution of amyloid vascular changes. *Stroke*. 1983 Nov-Dec; 14(6): 924-8
296. Uitti RJ, Donat JR, Rozdilsky B, Schneider RJ, Koeppen AH. Familial oculoleptomeningeal amyloidosis. Report of a new family with unusual features. *Arch Neurol*. 1988 Oct; 45(10): 1118-22.
297. Kametani F, Ikeda S, Yanagisawa N, Ishi T, Hanyu N. Characterization of a transthyretin-related amyloid fibril protein from cerebral amyloid angiopathy in type I familial amyloid polyneuropathy. *J Neurol Sci*. 1992 Apr; 108(2): 178-83.
298. Garzuly F, Vidal R, Wisniewski T, Brittig F, Budka H. Familial meningocerebrovascular amyloidosis, Hungarian type, with mutant transthyretin (TTR Asp18Gly). *Neurology*. 1996 Dec; 47(6): 1562-7.
299. Vidal R, Garzuly F, Budka H, Lalowski M, Linke RP, Brittig F, Frangione B, Wisniewski T. Meningocerebrovascular amyloidosis associated with a novel transthyretin mis-sense mutation at codon 18 (TTRD 18G). *Am J Pathol*. 1996 Feb;148(2):361-6.
300. Sakashita N, Ando Y, Jinnouchi K, Yoshimatsu M, Terazaki H, Obayashi K, Takeya M. Familial amyloidotic polyneuropathy (ATTR Val30Met) with widespread cerebral amyloid angiopathy and lethal cerebral hemorrhage. *Pathol Int*. 2001 Jun; 51(6): 476-80.
301. Hamburg A. Unusual cause of vitreous opacities. Primary familial amyloidosis. *Ophthalmologica*. 1971; 162(3): 173-7
302. FALLS HF, JACKSON J, CAREY JH, RUKAVINA JG, BLOCK WD. Ocular manifestations of hereditary primary systemic amyloidosis. *AMA Arch Ophthalmol*. 1955 Nov; 54(5): 660-4
303. Paton D, Duke JR. Primary familial amyloidosis. Ocular manifestations with histopathologic observations. *Am J Ophthalmol*. 1966 Apr; 61(4): 736-47
304. Lemaitre-Labailloy C, Bodaghi B, Cassoux N, Lehoang P. Acute choroidal closure caused by hemodialysis accident in an amyloidotic patient. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2006 Jun; 244(6): 758-60
305. Arevalo JF. Diabetic macular edema: Current management 2013. *World J Diabetes*. 2013 Dec 15;4(6):231-3
306. Abalde MJ, Zapata MA, Gómez-Ulla F, García-Arumí J. From scientific evidence to clinical practice: treatment regimens for macular edema secondary to retinal vein occlusion. *Arch Soc Esp Oftalmol*. 2012 Dec; 87 Suppl 1:54-62
307. Ventrice P, Leporini C, Aloe JF, Greco E, Leuzzi G, Marrazzo G, Scoria GB, Bruzzichesi D, Nicola V, Scoria V. Anti-vascular endothelial growth factor drugs safety and efficacy in ophthalmic diseases. *J Pharmacol Pharmacother*. 2013 Dec;4(Suppl1):S38-S42
308. O'Hearn TM, Fawzi A, He S, Rao NA, Lim JI. Early onset vitreous amyloidosis in familial amyloidotic polyneuropathy with a transthyretin Glu54Gly mutation is associated with elevated vitreous VEGF. *Br J Ophthalmol*. 2007 Dec; 91(12): 1607-9
309. Holmgren G, Steen L, Ekstedt J, Groth CG, Ericzon BG, Eriksson S, Andersen O, Karlberg I, Nordén G, Nakazato M, et al. Biochemical effect of liver transplantation in two Swedish patients with familial amyloidotic polyneuropathy (FAP-met30). *Clin Genet*. 1991 Sep; 40(3): 242-6
310. Holmgren G, Ericzon BG, Groth CG, Steen L, Suhr O, Andersen O, Wallin BG, Seymour A, Richardson S, Hawkins PN, et al. Clinical improvement and

- amyloid regression after liver transplantation in hereditary transthyretin amyloidosis. *Lancet*. 1993 May 1; 341(8853): 1113-6.
311. Pinho y Costa P, Canijo M. Familial amyloidotic polyneuropathy. *Rev Clin Esp*. 1968 Dec 31;111(6):583-6
312. Falcão De Freitas A, Barbedo A. Conduction disturbances in 190 patients with familial amyloidotic polyneuropathy (Andrade's type). *Adv Cardiol*. 1978; 21:206-9
313. de Freitas AF. The heart in Portuguese amyloidosis. *Postgrad Med J*. 1986 Jun; 62(728):601-5
314. Benson MD. Familial amyloidotic polyneuropathy. *Trends Neurosci*. 1989 Mar; 12(3): 88-92
315. Pinho e Costa P, Canijo M. Familial amyloidotic polyneuropathy. *Rev Clin Esp*. 1968 Dec 31; 111(6): 583-6.
316. Samuel D, Adams D. Domino liver transplantation from familial amyloidotic polyneuropathy donors: how close is the Damocles sword to the recipient? *Transpl Int*. 2007 Nov; 20(11): 921-3
317. Monteiro E, Freire A, Barroso E. Familial amyloid polyneuropathy and liver transplantation. *J Hepatol*. 2004 Aug;41(2):188-94
318. Monteiro E. Portuguese familial amyloidotic polyneuropathy. *Hepatology* 1995; 22
319. Kobayashi S, Morita H, Asawa T, Takei Y, Hashimoto T, Ikegami T, Hashikura Y, Kawasaki S, Ikeda S. Peripheral nerve function in patients with familial amyloid polyneuropathy after liver transplantation. *Amyloid*. 2003 Mar; 10(1): 17-24
320. Suhr OB, Ericzon BG, Friman S. Long-term follow-up of survival of liver transplant recipients with familial amyloid polyneuropathy (Portuguese type). *Liver Transpl*. 2002 Sep;8(9): 787-94
321. Suhr OB, Holmgren G, Steen L, Wikström L, Norden G, Friman S, Duraj FF, Groth CG, Ericzon BG. Liver transplantation in familial amyloidotic polyneuropathy. Follow-up of the first 20 Swedish patients. *Transplantation*. 1995 Nov 15; 60(9): 933-8
322. Suhr OB, Herlenius G, Friman S, Ericzon BG. Liver transplantation for hereditary transthyretin amyloidosis. *Liver Transpl*. 2000 May; 6(3): 263-76
323. Matsunami H, Makuuchi M, Kawasaki S, Hashikura Y, Ikegami T, Nakazawa Y, Miyagawa S, Takei Y, Ikeda S, Yanagisawa N. A case of familial amyloid polyneuropathy treated with partial liver transplantation using a graft from a living related donor. *Transplantation*. 1995 Aug 15; 60(3): 301-3
324. Suhr OB, Ericzon BG, Friman S. Long-term follow-up of survival of liver transplant recipients with familial amyloid polyneuropathy (Portuguese type). *Liver Transpl*. 2002 Sep;8(9): 787-94
325. Adams D, Slama M, Samuel D. Liver transplantation for familial amyloid polyneuropathy. *Presse Med*. 2010 Jan; 39(1): 17-25
326. Adams D, Samuel D, Goulon-Goeau C, Nakazato M, Costa PM, Feray C, Planté V, Ducot B, Ichai P, Lacroix C, Metral S, Bismuth H, Said G. The course and prognostic factors of familial amyloid polyneuropathy after liver transplantation. *Brain*. 2000 Jul; 123 (Pt 7): 1495-504.
327. Adams D, Samuel D, Slama M. Treatment of familial amyloid polyneuropathy. *Presse Med*. 2012 Sep; 41(9 Pt 1): 793-806
328. Munar-Qués M, Salva-Ladaria L, Mulet-Perera P, Solé M, López-Andreu FR, Saraiva MJ. Vitreous amyloidosis after liver transplantation in patients with

- familial amyloid polyneuropathy: ocular synthesis of mutant transthyretin. *Amyloid*. 2000 Dec;7(4):266-9.
329. Sousa A, Andersson R, Drugge U, Holmgren G, Sandgren O. Familial amyloidotic polyneuropathy in Sweden: geographical distribution, age of onset, and prevalence. *Hum Hered*. 1993 Sep-Oct; 43(5): 288-94.
330. Maitchouk DY, Beuerman RW, Ohta T, Stern M, Varnell RJ. Tear production after unilateral removal of the main lacrimal gland in squirrel monkeys. *Arch Ophthalmol*. 2000 Feb; 118(2): 246-52
331. Obayashi K, Ando Y. Focus on autonomic dysfunction in familial amyloidotic polyneuropathy (FAP). *Amyloid*. 2012 Jun; 19 Suppl 1:28-9
332. Chung CW, Tigges M, Stone RA. Peptidergic innervation of the primate meibomian gland. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1996 Jan; 37(1): 238-45
333. Seifert P, Spitznas M. Demonstration of nerve fibers in human accessory lacrimal glands. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 1994 Feb; 232(2): 107-14
334. Tasaki M, Ueda M, Obayashi K, Koike H, Kitagawa K, Ogi Y, Jono H, Su Y, Suenaga G, Oshima T, Misumi Y, Yoshida M, Yamashita T, Sobue G, Ando Y. Effect of age and sex differences on wild-type transthyretin amyloid formation in familial amyloidotic polyneuropathy: A proteomic approach. *Int J Cardiol*. 2013 Dec 5;170(1):69-74
335. Okamoto S, Zhao Y, Lindqvist P, Backman C, Ericzon BG, Wijayatunga P, Henein MY, Suhr OB. Development of cardiomyopathy after liver transplantation in Swedish hereditary transthyretin amyloidosis (ATTR) patients. *Amyloid*. 2011 Dec; 18(4): 200-5
336. Ohya Y, Okamoto S, Tasaki M, Ueda M, Jono H, Obayashi K, Takeda K, Okajima H, Asonuma K, Hara R, Tanihara H, Ando Y, Inomata Y. Manifestations of transthyretin-related familial amyloidotic polyneuropathy: long-term follow-up of Japanese patients after liver transplantation. *Surg Today*. 2011 Sep; 41(9): 1211-8
337. Martinho A, Gonçalves I, Costa M, Santos CR. Stress and glucocorticoids increase transthyretin expression in rat choroid plexus via mineralocorticoid and glucocorticoid receptors. *J Mol Neurosci*. 2012 Sep;48(1):1-13.
338. Klepetko W, Wollenek G, Laczkovics A, Laufer G, Wolner E. Domino transplantation of heart-lung and heart: an approach to overcome the scarcity of donor organs. *J Heart Lung Transplant*. 1991 Jan-Feb;10(1 Pt 1):129-31.
339. Furtado AJL. Sequential liver transplantation. Proceedings of the: second International Workshop on Liver Transplantation in Familial Amyloidotic Polyneuropathy. Lisbon; 1995
340. Furtado A, Tomé L, Oliveira FJ, Furtado E, Viana J, Perdigoto R. Sequential liver transplantation. *Transplant Proc*. 1997 Feb-Mar;29(1-2):467-8.
341. Hesse UJ, Troisi R, Mortier E, Decruyenaere J, de Hemptinne B. Sequential orthotopic liver transplantation--domino transplantation. *Chirurg*. 1997 Oct;68(10):1011-3
342. Hemming AW, Cattral MS, Chari RS, Greig PD, Lilly LB, Ashby P, Levy GA. Domino liver transplantation for familial amyloid polyneuropathy. *Liver Transpl Surg*. 1998 May;4(3):236-8.
343. Schmidt HH, Nashan B, Pröpsting MJ, Nakazato M, Flemming P, Kubicka S, Böker K, Pichlmayr R, Manns MP. Familial Amyloidotic Polyneuropathy: domino liver transplantation. *J Hepatol*. 1999 Feb;30(2):293-8.

344. Azoulay D, Samuel D, Castaing D, Adam R, Adams D, Said G, Bismuth H. Domino liver transplants for metabolic disorders: experience with familial amyloidotic polyneuropathy. *J Am Coll Surg*. 1999 Dec;189(6):584-93.
345. Furtado AJ. Domino liver transplantation using FAP grafts. HUC experience--hopes and realities. *Amyloid*. 2003 Aug; 10 Suppl 1:84-7
346. Stangou AJ, Heaton ND, Hawkins PN. Transmission of systemic transthyretin amyloidosis by means of domino liver transplantation. *N Engl J Med*. 2005 Jun 2;352(22): 2356
347. Sousa MM, Ferrão J, Fernandes R, Guimarães A, Geraldés JB, Perdigoto R, Tomé L, Mota O, Negrão L, Furtado AL, Saraiva MJ. Deposition and passage of transthyretin through the blood-nerve barrier in recipients of familial amyloid polyneuropathy livers. *Lab Invest*. 2004 Jul; 84(7): 865-73.
348. Ericzon BG. Domino transplantation using livers from patients with familial amyloidotic polyneuropathy: should we halt? *Liver Transpl*. 2007 Feb; 13(2): 185-7
349. Terazaki H, Ando Y, Nakamura M, Obayashi K, Misumi S, Shoji S, Yamashita S, Nakagawa K, Ishizaki T, Suhr O, Uemoto S, Inomata Y, Tanaka K. Variant transthyretin in blood circulation can transverse the blood-cerebrospinal barrier: qualitative analyses of transthyretin metabolism in sequential liver transplantation. *Transplantation*. 2001 Jul 27; 72(2): 296-9
350. Baratta L, Tubani L, Merli M, et al. Long-term effect of liver transplantation on cirrhotic autonomic cardiac dysfunction. *Dig Liver Dis*. 2010; 42: 131.
351. Thuluvath PJ, Triger DR. Autonomic neuropathy and chronic liver disease. *Q J Med*. 1989; 72: 737.
352. MacGilchrist AJ, Reid JL. Impairment of autonomic reflexes in cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 1990; 85: 288.
353. Hendrickse MT, Triger DR. Peripheral and cardiovascular autonomic impairment in chronic liver disease: prevalence and relation to hepatic function. *J Hepatol* 1992; 16: 177.
354. Carey EJ, Gautam M, Ingall T, Douglas DD. The effect of liver transplantation on autonomic dysfunction in patients with end-stage liver disease. *Liver Transpl*. 2008; 14: 235.
355. Strempel I, Grüber A, Bittner K. The dry eye in kidney transplants patients. *Klin Monbl Augenheilkd*. 1989 Sep;195(3):141-4
356. Dütsch M, Hilz MJ, Rauhut U, Solomon J, Neundörfer B, Axelrod FB. Sympathetic and parasympathetic pupillary dysfunction in familial dysautonomia. *J Neurol Sci*. 2002 Mar 15; 195(1): 77-83
357. Bremner F. Pupil evaluation as a test for autonomic disorders. *Clin Auton Res*. 2009 Apr; 19(2): 88-101
358. Bremner F, Smith S. Pupil findings in a consecutive series of 150 patients with generalised autonomic neuropathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2006 Oct; 77(10): 1163-8.
359. Dütsch M, Marthol H, Michelson G, Neundörfer B, Hilz MJ. Pupillography refines the diagnosis of diabetic autonomic neuropathy. *J Neurol Sci*. 2004 Jul 15; 222(1-2): 75-81.
360. Ferrari GL, Marques JL, Gandhi RA, Heller SR, Schneider FK, Tesfaye S, Gamba HR. Using dynamic pupillometry as a simple screening tool to detect autonomic neuropathy in patients with diabetes: a pilot study. *Biomed Eng Online*. 2010 Jun 17;9:26.

361. Filipe JA, Falcão-Reis F, Castro-Correia J, Barros H. Assessment of autonomic function in high-level athletes by pupillometry. *Auton Neurosci*. 2003 Feb 28;104(1):66-72.
362. Domingues, J.P.D., Contribuição para o desenvolvimento de nova instrumentação e novos métodos para fluorometria ocular de aplicação clínica - Um Novo Fluorómetro Ocular, Departamento de Física. 1997, Universidade de Coimbra: Coimbra.
363. Cunha-Vaz J, Bernardes R, Lobo C. Blood-retinal barrier. *Eur J Ophthalmol*. 2011; 21 Suppl 6:S3-9.
364. Cunha-Vaz, J. Optical Sensors for Clinical Ocular Fluorometry. 1997, Vol. *Progress in Retinal and Eye Research*. V.16.
365. Cunha-Vaz, J.G., O equilíbrio ambiental das células visuais. *Colóquio / Ciências*, 1992. 12: p. 69-82.
366. Schmut O, Zirm M. Qualitative and quantitative determination of prealbumin, retinol-binding protein, Gc-globulin and C4-component in aqueous humor. *Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol*. 1975 Nov 25; 197(2): 209-13
367. Bolte FJ, Schmidt HH, Becker T, Braun F, Pascher A, Klempnauer J, Schmidt J, Nadalin S, Otto G, Barreiros AP. Evaluation of domino liver transplantations in Germany. *Transpl Int*. 2013 Jul; 26(7): 715-23
368. Do Carmo A, Ramos P, Reis A, Proença R, Cunha-vaz JG. Breakdown of the inner and outer blood retinal barrier in streptozotocin-induced diabetes. *Exp Eye Res*. 1998 Nov;67(5):569-75.
369. Lobo CL, Bernardes RC, Figueira JP, de Abreu JR, Cunha-Vaz JG. Three-year follow-up study of blood-retinal barrier and retinal thickness alterations in patients with type 2 diabetes mellitus and mild nonproliferative diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol*. 2004 Feb;122(2):211-7.
370. Moriarty AP, Spalton DJ, Shilling JS, Ffytche TJ, Bulsara M. Breakdown of the blood-aqueous barrier after argon laser panretinal photocoagulation for proliferative diabetic retinopathy. *Ophthalmology*. 1996 May; 103(5): 833-8.
371. Blake CC, Geisow MJ, Swan ID, Rerat C, Rerat B. Structure of human plasma prealbumin at 2-5 Å resolution. A preliminary report on the polypeptide chain conformation, quaternary structure and thyroxine binding. *J Mol Biol*. 1974 Sep 5; 88(1): 1-12.
372. <http://www.antonioramalho.com/direscrita/ficheiros/ANGIOGRAFIA%20FLUORESCENTE%20OCULAR.pdf>
373. Zhou MW, Wang W, Chen SD, Huang WB, Zhang XL. Disorder of blood-aqueous barrier following Ahmed Glaucoma Valve implantation. *Chin Med J (Engl)*. 2013 Mar; 126(6): 1119-24.
374. Lansbury PT Jr. Evolution of amyloid: what normal protein folding may tell us about fibrillogenesis and disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999 Mar 30; 96(7): 3342-4
375. Esler WP, Stimson ER, Ghilardi JR, Vinters HV, Lee JP, Mantyh PW, Maggio JE. In vitro growth of Alzheimer's disease beta-amyloid plaques displays first-order kinetics. *Biochemistry*. 1996 Jan 23; 35(3): 749-57

Introdução

Descrição das alterações oftalmológicas da PAF na população portuguesa

Impacto do transplante hepático na oculopatia

Descrição de outras alterações: Presbiopia e Sensibilidade ao Contraste

Eritropoietina e neuroproteção no glaucoma

Terapêutica da oculopatia da PAF

Alterações oculares de recetores de fígado PAF e risco de oculopatia

Discussão

IX → Conclusões

Perspetivas futuras

IX → Conclusões

O nosso estudo sobre a oculopatia na polineuropatia amiloidótica familiar TTR V30M é pioneiro e único. Este estudo foi baseado numa amostra enorme de doentes PAF (cerca de 350), como também numa população de doentes não PAF e controles saudáveis. A nossa experiência na oculopatia PAF levou a que nos fossem encaminhados os doentes do Centro Hospitalar do Porto, e também do Centro Hospitalar Universitário de Coimbra e do Hospital Curry Cabral de Lisboa. Todos os doentes foram incluídos neste estudo.

Fomos os primeiros a caracterizar pormenorizadamente as manifestações oculares desta doença, como as anormalidades vasculares da conjuntiva, o olho seco, a deposição de amiloide na cápsula anterior do cristalino e da íris, a íris denteada, a amiloidose vítrea, o glaucoma e a angiopatia amiloidótica retiniana. Demonstramos a importância do aparecimento da íris denteada como importante preditor positivo do aparecimento de glaucoma. Descrevemos a fisiopatologia de manifestações nunca antes descritas, como a diminuição da sensibilidade ao contraste espacial e a presbiopia mais precoce. Avaliamos a neuroprotecção endocular no glaucoma e mostramos que nos doentes PAF, esta estava diminuída, ao contrário do que seria expectável. Estas nossas observações abrem novas perspetivas terapêuticas no tratamento do glaucoma PAF. Iniciamos, desde já, a elaboração de protocolos para a utilização de eritropoietina, cuja eficácia na neuroprotecção do glaucoma já foi demonstrada em modelos animais experimentais.

Fomos os primeiros a demonstrar a ausência de recidiva da amiloidose vítrea após vitrectomia, mas também que a ausência de vítreo nestes doentes induz o aparecimento mais precoce de glaucoma e da angiopatia amiloidótica da retina. Demonstramos a ausência de passagem da TTR mutante através da barreira hemato-aquosa e de aparecimento de oculopatia relacionada com a doença, em doentes receptores de transplante de fígado PAF.

Baseados nos nossos estudos quisemos caracterizar a evolução da doença ocular. O doente PAF, no início da sua doença sistémica apresenta apenas olho seco. Mais tarde podem apresentar alterações no segmento anterior, referindo

queixas de alteração da qualidade da visão e de presbiopia mais precoce. Posteriormente surge glaucoma, normalmente precedido do aparecimento da íris denteada e algumas vezes da realização de vitrectomia. Mais tarde na evolução aparece a angiopatia amiloidótica retiniana. Como observado por nós, a PAF apresenta-se como uma espiral crescente de número de manifestações oculares, com agravamento de todas elas ao longo do tempo, o que nos leva a concluir, que a oculopatia da PAF poderá ser considerado uma síndrome.

Assim, criamos um fluxograma de seguimento da oculopatia da PAF (Anexo). Este será um importante guia para todos os profissionais de saúde que acompanham doentes com PAF.

Esta Dissertação de Doutoramento em Ciências Médicas não é a marca só deste período de estudo, de muita aprendizagem e de muito trabalho. É uma linha de investigação clínica e de ciência básica na polineuropatia amiloidótica familiar TTR V30M, que seguimos há mais de uma década. Vai continuar no futuro.

Introdução

Descrição das alterações oftalmológicas da PAF na população portuguesa

Impacto do transplante hepático na oculopatia

Descrição de outras alterações: Presbiopia e Sensibilidade ao Contraste

Eritropoietina e neuroproteção no glaucoma

Terapêutica da oculopatia da PAF

Alterações oculares de recetores de fígado PAF e risco de oculopatia

Discussão

Conclusões

X → Perspetivas futuras

IX → Perspetivas futuras

Este trabalho permitiu conhecer melhor a oculopatia da amiloidose familiar TTR30M nos doentes portugueses. Foram descritas novas manifestações oftalmológicas, ampliamos o conhecimento das manifestações já descritas, foram demonstradas fisiopatologia e propostas terapêuticas. O estudo alargou-se à “PAF iatrogénica” dos receptores de fígado sequenciais.

A investigação já está centrada e poderá ser alargada a:

1. Estudo prospectivo da utilização da pupilometria estática e dinâmica, com possibilidade de utilização de fármacos coadjuvantes e a microscopia confocal corneana para estudo da evolução dos nervos corneanos, ajudando a marcar objectivamente início da doença e monitorização da sua evolução
2. A manifestação mais devastadora para a visão dos doentes PAF, é o glaucoma. É importante avaliar a eficácia das várias armas terapêuticas, incluído a eritropoietina
3. Alguns dos receptores dominó desenvolvem diabetes mellitus e a consequente retinopatia. A terapêutica *standard* da retinopatia diabética é a fotocoagulação com LASER de argon, danificando a barreira hemato-ocular. Será necessário determinar se é o suficiente para a passagem de TTR mutante e para o desenvolvimento de patologia endocular
4. Determinação da eficácia do Vyndaqel (Tafamidis[®]) na oculopatia da PAF. Demonstrada a sua eficácia na neuropatia, é de esperar a sua eficácia nas manifestações extra-oculares, mas é necessário avaliar o seu impacto nas manifestações intra-oculares. Um estudo preliminar poderá ser a demonstração da passagem do medicamento através da barreira hemato-ocular
5. Utilização de células epitélio pigmentado retiniano, produtoras de TTR e EPO, para caracterizar melhor a neuroprotecção endocular
6. Alargar o conhecimento adquirido com o estudo da oculopatia da PAF a outras patologias, nomeadamente à doença de Alzheimer e ao envelhecimento humano

RESUMO

A polineuropatia amiloidótica familiar TTR V30M (ATTR V30M) é a forma de amiloidose hereditária mais frequente. Portugal representa o maior foco mundial da doença, com cerca de 600 famílias afetadas e mais de 3000 portadores da doença. Em mais de 80% dos casos, a doença inicia os seus sintomas antes dos 40 anos de idade. A principal manifestação da doença é a neuropatia sensitivo-motora e autonómica. Além da neuropatia, são conhecidas outras manifestações: cardiovasculares, renais, osteoarticulares, endócrinas, hematológicas, cutâneas, gastrointestinais e oftalmológicas.

A primeira descrição de algumas das manifestações da oculopatia na PAF foi efetuada por Corino de Andrade no seu artigo publicado na revista *Brain*, onde descreveu a íris denteada, a diminuição ou a ausência de reflexos pupilares e a resposta da pupila à instilação de atropina mas não de pilocarpina. Foram descritas, em vários trabalhos, alterações na conjuntiva, nas glândulas lacrimais, na pupila, na cápsula anterior do cristalino, no vítreo e na retina. O desenvolvimento de glaucoma foi igualmente reportado por vários autores. A prevalência de cada uma destas alterações e o momento do seu aparecimento no decurso da doença não eram conhecidos na população portuguesa.

O transplante hepático mostrou ser eficaz no controlo da maioria das manifestações da doença, mas incapaz de parar a progressão da doença ocular devido à manutenção da produção de TTR mutante pelas células do epitélio pigmentado da retina e do epitélio pigmentado ciliar. Com o aumento da sobrevida dos doentes submetidos a transplante hepático, era importante avaliar o impacto do transplante hepático na oculopatia da polineuropatia amiloidótica familiar.

A transplantação de fígado dominó ou sequencial apareceu como uma estratégia para aumentar o número de fígados disponíveis, na qual os órgãos explantados dos doentes PAF eram usados em doentes selecionados. Já foram efetuados até à data mais de 1000 transplantes dominó de acordo com o *Domino Liver Transplant Registry*. Apesar da estimativa inicial de transferência da doença apontar para um baixo risco, dada a história natural da doença, foram descritos casos de polineuropatia clínica 8 anos após o transplante, confirmada por

eletromiografia e biopsia de nervo. Neste contexto, o atingimento oftalmológico dos recetores de fígado PAF era teoricamente possível e importava esclarecer qual o risco de aparecimento de oculopatia da PAF iatrogénica nestes doentes.

O trabalho desenvolvido e aqui apresentado teve como objetivos principais o conhecimento da prevalência das diferentes manifestações da oculopatia nos doentes portugueses com polineuropatia amiloidótica familiar, a avaliação do impacto do transplante hepático na evolução da oculopatia, a análise dos tratamentos existentes para a doença ocular e a proposta de novos tratamentos e, por último, a avaliação do risco de oculopatia nos recetores de fígados de PAF submetidos a transplante hepático sequencial

Para estudar as manifestações da oculopatia da ATTRV30M nos doentes portugueses, foi realizado um estudo retrospectivo de 513 portadores da mutação TTRV30M, 36 portadores assintomáticos e 477 doentes, com uma mediana de tempo de doença de 9,3 (IQR 5,1-13,7) anos. Nenhum dos portadores assintomáticos apresentava qualquer manifestação oftalmológica da PAF. As manifestações oculares encontradas, por ordem decrescente de prevalência, foram o TBUT anormal (79,5%), o teste de Schirmer anormal (67%), o depósito de amiloide na íris (38,4%), o depósito de amiloide na cápsula anterior do cristalino (32,9%), a íris denteada (27,9%), o glaucoma (20,3%), a amiloidose vítrea (17,4%), as anormalidades vasculares da conjuntiva (14,3%) e a angiopatia amiloidótica retiniana (4,4%). As manifestações oculares mais precocemente encontradas foram o TBUT e o teste de Schirmer anormais. A prevalência das manifestações aumentou com a duração da doença.

As anormalidades vasculares da conjuntiva são a primeira e a mais frequente alteração oftalmológica observada nos doentes PAF japoneses (86%) mas raramente são observadas nos doentes suecos (1,7%). Nos doentes PAF portugueses, as anormalidades vasculares da conjuntiva foram observados em 14,3 % dos olhos e não foram a manifestação mais precoce da oculopatia. As anormalidades vasculares da conjuntiva são mais prevalentes nos doentes com idade de início de doença intermédia, entre 40 e 50 anos (17,2%), seguido pelo grupo de olhos de doentes com início precoce, antes dos 40 anos (15,6%) e por último pelo grupo de olhos de doentes com início tardio, após os 50 anos (4,4%).

Os doentes PAF podem apresentar várias alterações da íris. A alteração inicial é a deposição de amiloide no bordo da íris, que evolui, com o tempo, para o denteamento da íris. O glaucoma apresentava uma prevalência de 20,3 %. Observamos uma forte associação entre a presença de glaucoma e íris denteada, com presença de íris denteada em 92,1% dos olhos com glaucoma.

Com o aumento da pressão intraocular, são ativados vários mecanismos de neuroprotecção, entre os quais se encontra o aumento dos níveis de eritropoietina no humor aquoso, uma citocina, produzida pelas células do epitélio pigmentado da retina, que demonstrou ter funções de neuroprotecção. A produção inapropriada de eritropoietina (EPO) sérica na PAF pode ocorrer independentemente da doença renal e pode mesmo preceder a anemia e os sintomas da doença. À semelhança do que se passa a nível sistémico, concentração de EPO no humor aquoso não aumenta na presença de glaucoma, o que sugere uma menor neuroprotecção endocular e que pode contribuir para a maior agressividade do glaucoma.

A amiloidose vítrea foi descrita como manifestação inaugural da doença em 50% dos doentes suecos e em 22% dos doentes japoneses, facto não observado no nosso estudo. A amiloidose vítrea foi observada em 17,4 % dos doentes, independentemente da idade de início de doença, do género e do progenitor-transmissor. A recorrência da amiloidose vítrea após a vitrectomia foi descrita por vários autores. No estudo realizado observamos que os novos depósitos não foram encontrados nos olhos submetidos à remoção completa do vítreo, mas apenas nos olhos em que foi efetuada uma vitrectomia incompleta, sugerindo que não há uma verdadeira recorrência da amiloidose vítrea, mas sim a continuação da deposição no vítreo remanescente. Como anteriormente descrito, observamos que a vitrectomia favorece o aparecimento ou agravamento do glaucoma em doentes PAF e que quanto mais completa for a remoção do vítreo maior será o risco de desenvolvimento de glaucoma.

Para avaliar o impacto do transplante hepático foi realizado um estudo retrospectivo de 64 doentes portugueses com ATTRV30M, 32 transplantados hepáticos emparelhados com 32 doentes não transplantados, para a idade, a idade de início de sintomas, o tempo de doença, o género e o progenitor-transmissor. Não se observaram diferenças estatisticamente significativas entre os resultados dos dois grupos, pelo que concluímos que o transplante hepático,

não influência significativamente, ao longo do tempo, qualquer das manifestação oftalmológica estudada da PAF.

Além das manifestações anteriormente descritas, descrevemos o desenvolvimento mais precoce da presbiopia em relação à população normal, relacionado com a deposição de amiloide na cápsula anterior do cristalino, e a redução da sensibilidade ao contraste espacial, de aparecimento precoce. A sensibilidade ao contraste espacial ao ser afetada pelo olho seco, agravada pela opacificação da capsula anterior do cristalino e provavelmente também pela deposição de amiloide no vítreo, poderá ser um método importante na deteção do início e no seguimento da doença oftalmológica nos doentes PAF.

O olho seco é muito frequente nos doentes PAF, podendo atingir uma prevalência próxima dos 90% em doentes com 10 ou mais anos de doença clínica, mesmo em doentes transplantados. Em Portugal, os únicos tratamentos disponíveis para o tratamento do olho seco são as lágrimas artificiais, os *plugs* lacrimais e por vezes pulsos de corticoterapia tópica, com eficácia limitada nos casos graves de olho seco. Apesar da eficácia da ciclosporina tópica no olho seco severo ter sido amplamente demonstrada, existiam dúvidas da sua eficácia em doentes transplantados hepáticos, já sob terapêutica imunossupressora com ciclosporina oral. Investigamos o uso da ciclosporina tópica em colírio no tratamento de olho seco severo em doentes PAF transplantados hepáticos, medicados com ciclosporina sistémica, sem resposta adequada à terapêutica intensiva com lágrimas artificiais e *plugs* lacrimais. O tratamento tópico com ciclosporina foi eficaz e não se observaram eventos adversos locais ou sistémicos.

A diminuição da acuidade visual nos doentes PAF pode ser multifatorial. Enquanto a amiloidose vítrea tem um prognóstico visual muito favorável, graças à vitrectomia, a queratite por olho seco severo poderá representar um sério desafio médico. O glaucoma e a angiopatia retiniana amiloidótica podem desenvolver-se de um modo relativamente rápido e conduzir rapidamente à cegueira irreversível, se não tratados. A vigilância regular por oftalmologista é fundamental em todos os doentes PAF, para deteção precoce de patologias oculares relacionadas com a doença ou de fatores de risco para o glaucoma, como a íris denteada.

A angiopatia amiloidótica retiniana, embora rara é uma situação grave que pode condicionar perda de visão. O tratamento de um caso sugere que o ranimizumab intravítreo pode ter um papel no tratamento do glaucoma neovascular dos doentes PAF, coadjuvado pela fotocoagulação LASER.

O transplante em dominó ou sequencial é um procedimento estabelecido que permite aumentar o número de fígados disponíveis para transplante. O estudo de doentes recetores de fígados PAF não identificou quaisquer manifestações oftalmológicas relacionadas com a PAF, após uma média de 6 anos de transplante. Este estudo foi complementado com a análise do humor aquoso de um doente transplantado há 2 anos, recetor de fígado PAF, por espectrometria de massa e de *Western blot*. Foi apenas detetada TTR não mutante e ausência de TTR V30M no humor aquoso, demonstrando a incapacidade da TTR atravessar a barreira hemato-ocular. O risco de doença endocular PAF pode ser considerado negligenciável nos doentes recetores de fígados PAF.

SUMMARY

Familial Amyloid Polyneuropathy TTR V30M (FAP) is the most prevalent form of hereditary amyloidosis in the world. Portugal represents the largest focus of disease worldwide, with near 600 affected families and more than 3000 carriers. Over 80 % of patients became symptomatic before the age of 40. The main manifestation of the disease is the sensorimotor and autonomic neuropathy. Besides neuropathy, other manifestations can occur such as cardiovascular, renal, endocrine, hematologic, dermatologic, gastrointestinal, and ocular abnormalities.

The first description of some manifestations of FAP oculopathy was made by Corino de Andrade in his manuscript published in the journal *Brain*. The abnormalities described were scalloped iris and decrease or absence of pupillary reflexes and pupil response to instillation of atropine but not pilocarpine. In later studies, others features have been described in the conjunctiva, the lacrimal gland, the pupil, the anterior lens capsule, the vitreous and the retina. The development of glaucoma has also been reported by various authors. The prevalence of each of these changes and the time of their appearance in the course of the disease were not known in the Portuguese FAP population.

Liver transplantation shown to be effective in controlling most of the manifestations of the disease, but unable to stop the progression of ocular disease due to maintenance of mutant TTR local production by cells of the retinal pigment epithelium and ciliary pigment epithelium. With the increased survival of liver transplanted patients, it was important to assess the impact of liver transplantation in FAP oculopathy.

Domino liver transplantation using livers from FAP patients appeared to be a safety strategy to increase the number of available livers given the shortage of cadaver grafts. Have been performed to date in more than 1000 patients according to the Domino Liver Transplant Registry. Given the natural history of the disease, which takes more than 20 years to become clinically apparent, the initial estimate risk of disease transfer was low. Despite this, have been

reported cases of clinical polyneuropathy 8 years after transplantation, confirmed by electromyography and nerve biopsy. In this context, the ocular involvement in FAP liver receptors was theoretically possible and it was important to clarify the risk of iatrogenic oculopathy in these patients.

The main objectives of this work were to establish the prevalence of different manifestations of oculopathy in FAP Portuguese patients, to assess the impact of liver transplantation in the oculopathy evolution, the analysis of existing and new treatments for ocular disease and, to evaluate the risk of oculopathy transfer with domino liver transplantation.

In order to study the manifestations of the oculopathy in ATTRV30M Portuguese patients, a retrospective study was performed in 513 TTRV30M mutation carriers, 36 asymptomatic carriers and 477 symptomatic patients. The median disease duration was 9.3 (IQR 5.1-13.7 years). None of the asymptomatic patients had any ocular abnormality FAP related. The ocular manifestations observed in symptomatic patients were, in descending order of prevalence, abnormal TBUT (79.5%), abnormal Schirmer's test (67%), amyloid deposition in the iris (38.4%), amyloid deposition in anterior lens capsule (32.9%), scalloped iris (27.9%), glaucoma (20.3%), vitreous amyloidosis (17.4%), vascular abnormalities of the conjunctiva (14.3%) and retinal amyloid angiopathy (4.4%). The earlier ocular manifestations observed were the changes in TBUT and Schirmer test and, the prevalence of all manifestations increased with the disease duration.

Vascular abnormalities of the conjunctiva are the first and most frequent ocular abnormalities observed in Japanese FAP patients (86%) but are rarely observed in Swedish patients (1.7%). In Portuguese FAP patients, the vascular abnormalities of the conjunctiva were observed in 14.3% of eyes and were not the earliest manifestation of oculopathy. These abnormal vessels were more prevalent in eyes from patients with intermediate age of onset of disease, between 40 and 50 years (17.2%) , followed by the group of eyes bellowing to patients with early onset of disease, before 40 years (15.6%) and lastly by the group of eyes from patients with late onset of disease, after age 50 (4.4%) .

FAP patients may experience several changes of iris. The initial change observed was the deposition of amyloid on the iris edge, which progressed to scalloped iris. Glaucoma affected 20.3% of FAP patients and a strong association between the presence of glaucoma and scalloped iris was observed, with the presence of scalloped iris in 92.1 % of eyes with glaucoma.

The increase in intraocular pressure is associated to activation of various neuroprotective mechanisms, including the increase of erythropoietin levels in the aqueous humor, a cytokine with neuroprotective functions, produced by cells of the retinal pigment epithelium. Inappropriate production of erythropoietin (EPO) in PAF was commonly observed, independent of the presence of chronic renal disease. Low serum EPO levels may even occur in asymptomatic carriers. Similar to what happens at the systemic level, EPO concentration in the aqueous humor does not increase in the presence of glaucoma, suggesting a lower endocular neuroprotection that may contribute to the increased aggressiveness of glaucoma in these patients.

Vitreous amyloidosis was described as inaugural manifestation in 50% of Swedish patients and 22% of Japanese patients, a fact not observed in our study. Vitreous amyloidosis was observed in 17.4% of Portuguese FAP patients, regardless the age of onset of disease, gender and parent - transmitter. The recurrence of the amyloid opacities after vitrectomy was described by several authors. In this study we observed that the new deposits were only found in eyes with an incomplete vitrectomy and were not observed the eyes submitted to complete vitreous removal, suggesting not a true recurrence of vitreous amyloidosis, but the continued deposition in the remaining vitreous. As previously described, we observed the relation between vitrectomy and the emergence or worsening of glaucoma in FAP patients and the risk of developing glaucoma is higher at more complete removal of vitreous.

To assess the impact of liver transplantation, a retrospective study of 64 Portuguese FAP patients, 32 liver transplanted patients matched with 32 non-transplanted patients for age, age of onset of disease, disease duration, gender and parent - transmitter was conducted. No statistically significant differences between the results of the two groups were observed, and therefore we

conclude that liver transplantation does not influence significantly over time the FAP ocular disease course.

Additionally, two new ocular manifestations were described, the development of early presbyopia, associated with deposition of amyloid in the anterior lens capsule, and the decrease in sensitivity to spatial contrast. The spatial contrast sensitivity may be affected by dry eye, anterior lens capsule opacification and vitreous amyloid deposition and could be an important method for the early detection and follow-up of ocular disease in FAP patients.

Dry eye is very common in FAP patients and can affects up to 90 % of patients with 10 or more years of clinical disease, even in transplanted patients. In Portugal, the treatments available for dry eye are artificial tears, lacrimal plugs and topical corticosteroid therapy, with limited efficacy in severe cases. Despite the demonstrated efficacy of topical cyclosporine in severe dry eye treatment, the superiority of its efficacy in the treatment of dry eye in patients already on oral cyclosporine was not established. We evaluated the efficacy of topical cyclosporine eye drops in the treatment of severe dry eye in liver transplanted FAP patients under oral cyclosporine therapy, who did not respond to intensive therapy with artificial tears and lacrimal plugs. The results confirmed that topical cyclosporine is a safety drug for severe dry eye treatment, more effective than oral cyclosporine.

The decrease in visual acuity in FAP patients may be multifactorial. While vitreous amyloidosis is removed by vitrectomy and has a good visual prognosis, the severe keratitis may be a serious challenge to the ophthalmologist and is associated with a poor prognosis. Glaucoma and retinal angiopathy may have a rapid evolution and lead to irreversible blindness, if not treated. Regular surveillance by ophthalmology is essential for all FAP patients to detect ocular pathologies FAP related and risk factors for glaucoma development such as scalloped iris.

Although rare, retinal amyloid angiopathy is a serious condition that can lead to vision loss. The treatment of a case with ranibizumab suggests that intravitreal ranibizumab may have a role in neovascular glaucoma treatment in FAP patients associated with laser photocoagulation.

Domino or sequential liver transplant is an established procedure which increases the number of organs available for transplantation. The study of FAP liver recipients PAF with 6 years of transplant, on average, did not identify any ocular manifestation FAP related. Additionally, the analysis of the aqueous humor, by mass spectrometry and western blot, of a domino liver transplanted patient, with 2 years of transplant, showed that mutant V30M TTR is unable to cross the blood-ocular barrier. Based on these results, we can predict that the risk of transmitting the disease is negligible.

Anexo

PROPOSTA DE PROTOCOLO PARA O SEGUIMENTO DA OCULOPATIA EM DOENTES COM POLINEUROPATIA AMILOIDÓTICA FAMILIAR TTR V30M

Este estudo foi desenvolvido em ambiente clínico, como tentativa de melhor caracterizar e compreender a oculopatia nos doentes portugueses com amiloidose familiar TTRV30M. Sabemos agora qual a prevalência das diferentes manifestações oculares, a sua sequência de aparecimento, e a sua gravidade e a sua interdependência. Como foi demonstrado, o transplante hepático não tem influência significativa no aparecimento e na evolução das manifestações oculares pelo que os doentes transplantados devem ser vigiados de igual forma pelo oftalmologista. Apesar dos resultados promissores sobre a ação do Tafamidis, aprovado para o tratamento da doença sistémica, desconhece-se a sua eficácia no olho, protegido pela barreira hemato-ocular e produtor de TTR mutante. Impõe-se, por isso, uma vigilância pelo menos semelhante à de todos os outros doentes não tratados com este novo fármaco.

A primeira avaliação oftalmológica deverá ser efectuada aquando do diagnóstico genético e a cada 2 anos nos portadores assintomáticos da doença. Nesta fase pré sintomática poderão ser utilizados exames especiais de oftalmologia prospetivamente, como a pupilometria e a microscopia confocal corneana. Com a recolha dos dados clínicos oftalmológicos, estes exames poderão contribuir decisivamente para a determinação mais exata do início da doença sistémica nestes doentes e o consequente início mais precoce do tratamento.

Após o aparecimento das manifestações clínicas sistémicas da doença, a avaliação oftalmológica deverá passar a anual. Em cada avaliação oftalmológica deve ser seguido um protocolo rigoroso e completo, sempre adaptado às manifestações oculares. A periodicidade de seguimento deve ser aplicada a todos os doentes, independentemente de serem transplantados hepáticos ou não.

A periodicidade do seguimento deve ser ditada pela alteração que exige um acompanhamento mais frequente. A oculopatia manifesta-se, em regra, nos doentes já com alguns anos de doença clínica e o estudo protocolado da

sensibilidade ao contraste espacial pode contribuir para datar o início da oculopatia.

Os exames complementares de diagnóstico são particularmente relevantes no diagnóstico e seguimento do glaucoma (campos visuais, paquimetria, OCT papilar), bem como no diagnóstico e caracterização da angiopatia retiniana (angiografia fluoresceínica e com verde de indocianina).

Os doentes submetidos a transplante sequencial e recetores de fígados produtores de TTR V30M não necessitam de um seguimento oftalmológico relacionado com esta condição. No entanto, é importante lembrar que quase 50 % destes doentes desenvolvem diabetes *mellitus* após o transplante, com a possível ocorrência de retinopatia diabética. Embora a TTR não ultrapasse a barreira hemato-ocular, tal como nós demonstramos, esta barreira pode ser alterada pela fotocoagulação LASER utilizada no tratamento da retinopatia diabética, e permitir a passagem de TTR V30M para dentro do globo ocular.

Também lembramos que doentes PAF, e os doentes transplantados hepáticos sequenciais, podem ser atingidos por todas as outras doenças oftalmológicas, necessitando acompanhamento adequado de acordo com cada uma delas.

Componentes específicos da avaliação oftalmológica na PAF

Anamnese

- Identificação de: idade do doente, idade de início de sintomas sistémicos, progenitor-transmissor da doença, a situação e tempo de transplante hepático

Exame físico ocular

- A melhor acuidade visual corrigida para longe e para perto
- Teste de Schirmer
- Biomicroscopia:
 - o Conjuntiva: presença de anomalias vasculares da conjuntiva

- Córnea: integridade epitélio, transparência, TBUT
 - Iris: presença de depósitos de amiloide, presença de iris denteada
 - Cristalino: presença de deposição de amiloide na cápsula anterior
 - Vítreo anterior: presença de amiloide, presença de *pseudo-podis*
 - Pressão intra-ocular por aplanção
- Fundo ocular:
- Presença de amiloide no vítreo
 - Presença de angiopatia amiloidótica da retina
 - Estado nervo ótico

Exames complementares de diagnóstico

- Angiografia fluorosceínica
- Angiografia com verde de indocianina
- Campos visuais por perimetria
- Paquimetria
- OCT papilar

Exames especiais de oftalmologia

- Sensibilidade ao contraste espacial
- Pupilometria estática e dinâmica, microscopia confocal corneana (ainda em estudo)

Proposta de algoritmo de seguimento da oculopatia de doentes com ATTR V30M

